



## Središnja medicinska knjižnica

**Kuliš, Tomislav (2013) *Prevenција gubitka koštane mase pamidronatom nakon transplantacije bubrega [Efficacy of pamidronate in prevention of bone loss after renal transplantation].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

<http://medlib.mef.hr/1883>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

Tomislav Kuliš

Prevenција gubitka koštane mase  
pamidronatom nakon transplantacije  
bubrega

DISERTACIJA



**ZAGREB, 2013.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

Tomislav Kuliš

Prevenција gubitka koštane mase  
pamidronatom nakon transplantacije  
bubrega

DISERTACIJA

**ZAGREB, 2013.**

Disertacija je izrađena u Klinici za urologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Provođenje ovog istraživanja omogućeno je sredstvima znanstvenoistraživačkog projekta koji vodi prof. Zvonimir Mareković, „Gubitak kosti nakon transplantacije bubrega“ odobrenog od Ministarstva znanosti Republike Hrvatske pod šifrom projekta 0108175.

Voditelj rada: prof. dr. sc. Željko Kaštelan.

Zahvaljujem se prvenstveno prof. dr. sc. Željku Kaštelanu i prof. dr. sc. Zvonimiru Marekoviću na vodstvu i nesebičnoj potpori tijekom izrade ove disertacije.

Hvala sestrama i liječnicima Klinike za urologiju i Zavoda za dijalizu KBC Zagreb koji su mi bili podrška tijekom izrade ovog rada.

Ovaj rad posvećujem svojoj obitelji koja mi je oduvijek bila najveća potpora.

*What I decided I could not continue doing was making decisions about intervening (for example pneumothorax and thoracoplasty) when I had no idea whether I was doing more harm than good. I remember reading a pamphlet (I think from the BMA) extolling the advantages of the freedom of British doctors to do whatever they thought best for their patients. I found it ridiculous. I would willingly have sacrificed all my medical freedom for some hard evidence telling me when to do a pneumothorax ...*

Archie Cochrane, 1940.

## Sadržaj

Popis oznaka i kratica .....	I
1. UVOD .....	1
1.1. Građa kosti .....	7
1.1. Stanice koštanog tkiva .....	9
1.2. Pregradnja kosti .....	11
1.3. Uloga lokalnih citokina, lokalnih čimbenika rasta i prostaglandina .....	12
1.4. Kostiranjive u osteoporozir .....	15
1.5. Renalna osteodistrofija .....	16
1.6. Poremećajir metabolizma kosti nakon transplantacijebubrega .....	19
1.7. Prijelomi kosti nakon transplantacijebubrega .....	20
1.8. Učinak imunosupresivne terapije na metabolizam kosti .....	20
1.9. Mjerenje kvalitete kosti / koštane mase .....	24
1.10. Prevencija gubitka koštane mase nakon transplantacijebubrega .....	26
1.10.1. Preporuke Nacionalne zaklade za bubreg .....	26
1.10.2. Nadomjestak kalcija i vitamina D .....	27
1.10.3. Kalcitonin .....	27
1.10.4. Nadomjesno hormonsko liječenje .....	28
1.10.5. Bisfosfonatir .....	28
1.11. Dosadašnjie spoznaje .....	30
2. HIPOTEZA I CILJEVI .....	32

2.1. Hipoteza .....	32
2.2. Ciljevi .....	32
3. BOLESNICI I METODE .....	33
3.1. Ispitanici .....	33
3.2. Kontrolna skupina .....	33
3.3. Protokol istraživanja .....	33
3.4. Određivanje gustoće koštane mase .....	35
3.5. Laboratorij .....	36
3.6. Statističke metode .....	37
3.7. Odobrenje etičkog povjerenstva .....	38
4. REZULTATI .....	39
4.1. Statistički parametri biokemijskih varijabli ispitivane skupine .....	40
4.2. Statistički parametri biokemijskih varijabli kontrolne skupine .....	42
4.3. Statistička analiza laboratorijskih varijabli između skupina .....	44
4.4. Analiza denzitometrije ispitivane skupine .....	50
4.5. Analiza denzitometrije kontrolne skupine .....	52
4.6. Promjena gustoće koštane mase .....	54
4.7. Statistička analiza rezultata denzitometrije unutar i između skupina .....	61
4.8. Statistička analiza postotka promjene gustoće koštane mase između skupina ..	65
5. RASPRAVA .....	67
6. ZAKLJUČCI .....	80
7. SAŽETAK .....	81

8. SUMMARY .....	83
9. ŽIVOTOPIS .....	85
10. LITERATURA.....	87



## Popis oznaka i kratica

ACTH	adrenokortikotropni hormon
ATN	akutna tubularna nekroza
BMD	mineralna gustoća kosti, engl. <i>Bone Mineral Density</i>
BMP	koštani morfogenetski protein, engl. <i>Bone Morphogenetic Protein</i>
CKD-MBD	kronična bubrežna bolest – mineralni i koštani poremećaj, engl. <i>Chronic Kidney Disease - Mineral and Bone Disorder</i>
CTX	karboksiterminalni telopeptid kolagena tipa 1
DPD	deoksipiridinolin
DXA	denzitometrija, dvoenergetska rendgenska apsorpciometrija, engl. <i>Dual X-ray Absroptiometry</i>
FGF	čimbenik rasta fibroblasta, engl. <i>Fibroblast Growth Factor</i>
FSGS	fokalna segmentalna glomeruloskleroza
GM-CSF	čimbenik za stimuliranje rasta kolonija granulocita i makrofaga engl. <i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
IFN	interferon
IGF-I	čimbenik rasta sličan inzulinu, engl. <i>Insulin-like Growth Factor I</i>
IL	interleukin
ITM	indeks tjelesne mase, engl. <i>Body Mass Index</i>
KBZ	konačno bubrežno zatajenje
M-CSF	čimbenik za stimuliranje rasta kolonija makrofaga engl. <i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
NTX	aminoterminalni telopeptid kolagena tipa 1

OPG	osteoprotegerin
PDGF	čimbenik rasta iz trombocita, engl. <i>Platelet-Derived Growth Factor</i>
PTH	paratiroidni hormon
RANKL NFκB	ligand čimbenika jezgrinog poticaja, engl. <i>Receptor Activator of Nuclear Factor-κB Ligand</i>
SCF	engl. <i>Stem Cell Factor</i>
TGF	čimbenik poticanja rasta, engl. <i>Transforming Growth Factor</i>
TGF-β	čimbenik poticanja rasta beta, engl. <i>Transforming Growth Factor–beta</i>
TNF	čimbenik tumorske nekroze tumora, engl. <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TRAP	kisela fosfataza otporna na tartarat, engl. <i>Tartrat Resistent Acid Phosphatase</i>

## 1. UVOD

Presadivanje organa danas je širom svijeta prihvaćena i uspješna metoda liječenja bolesnika kod kojih je nastupilo nepovratno zatajenje funkcije organa. Za neke organe kao što su jetra, srce i pluća presađivanje je ujedno i jedina metoda liječenja. Transplantacija bubrega predstavlja metodu izbora za liječenje bolesnika s konačnim bubrežnim zatajenjem (KBZ). O uspjehu transplantacije bubrega se govori od prve uspješne transplantacije 1954. godine koju je učinio bostonski kirurg Joseph Murray sa suradnicima. S obzirom, da je već tada bio poznat problem imunokompatibilnosti primatelja i doniranih organa, Murray je učinio transplantaciju između monozigotnih blizanaca. Za ovaj uspjeh je 1990. godine i nagrađen Nobelovom nagradom za medicinu.

Prvi i životno važni postupak kod bolesnika s konačnim bubrežnim zatajenjem je obično dijaliza. Iako predstavlja značajan uspjeh medicine i korist za bolesnike s KBZ-em, dijalizu ne bi trebalo smatrati trajnim rješenjem (1). Unatoč napretku tehnologije dijaliza ima značajne nedostatke: (2)

- bolesnici na dijalizi imaju 17 puta veću stopu mortaliteta u odnosu na dobno uparene zdrave kontrole (najviše radi mortaliteta od kardiovaskularnih bolesti)
- dijaliza čini tek oko 10% funkcije bubrega
- dijaliza ne zamjenjuje ostale funkcije bubrega (npr. proizvodnja eritropoetina i metabolizam vitamina D)
- za dijalizu je potreban vaskularni pristup ili pristup peritonealnoj membrani što zahtjeva dodatne kirurške zahvate i pruža mogućnost infekcije
- dijaliza je skup postupak

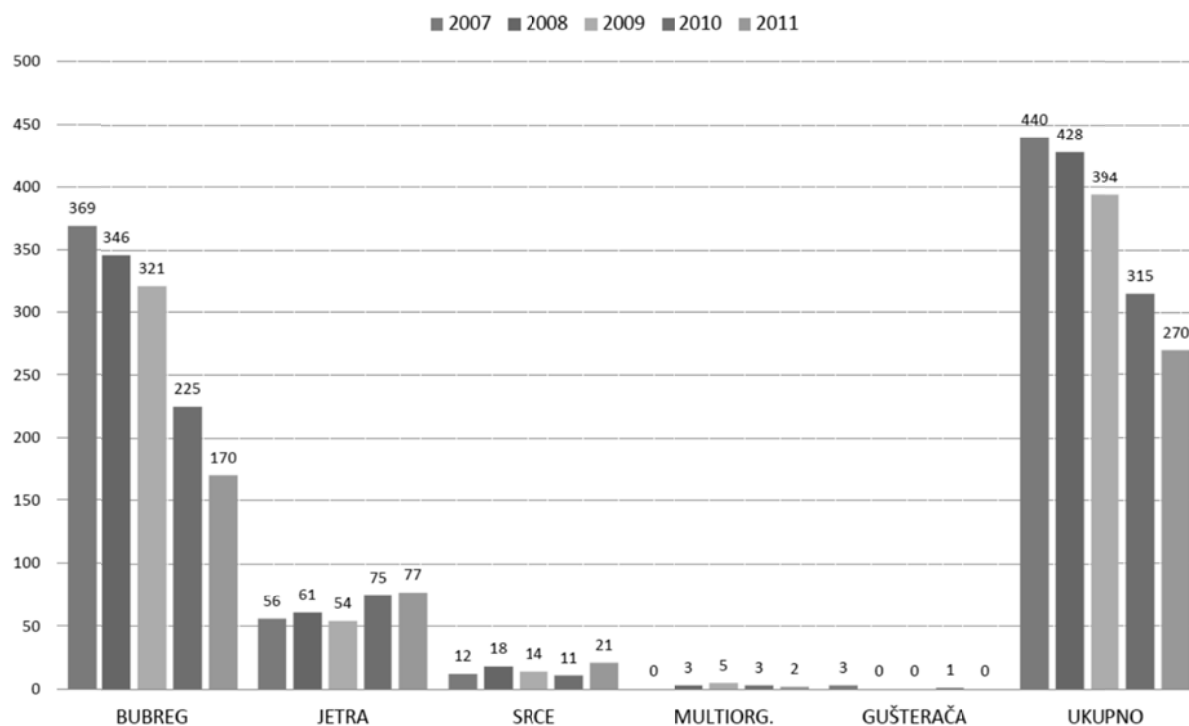
S druge strane, transplantacija bubrega osim jasne koristi za zdravlje izuzetno pridonosi poboljšanju kvalitete života primatelja. Tako transplantacija bubrega utječe na:

- produljenje života bolesnika
- poboljšanje metaboličkih posljedica terminalnog zatajenja bubrega (uremija, anemija, vitamin D)
- poboljšanje kvalitete života (prekid s redovitom dijalizom, povratak trajnom zaposlenju, povećanje energije i sposobnosti vježbanja, poboljšanje u spolnom životu)
- poboljšanje kvalitete života članova neposredne obitelji
- smanjenje troškova liječenja u odnosu na dijalizu.

Napredak kirurške tehnike, medicine i razvoj novih imunosupresivnih lijekova omogućio je da transplantacija bubrega danas postane rutinski terapijski postupak i metoda izbora za liječenje KBZ-a. Ovaj uspjeh je doveo do disproporcije između broja bolesnika koji čekaju na transplantaciju bubrega i mogućih darivatelja organa. U svrhu bolje regulacije darivanja organa i povećanja broja darivatelja poduzete su mnoge promjene u RH. Tako je došlo do promjene u zakonskom okviru, ostvaren je značajan pomak u edukaciji zdravstvenog osoblja te podizanja svijesti stanovnika o dobrobiti transplantacije organa. Republika Hrvatska je od 2007. godine postala punopravna članica udruženja Eurotransplant uz zemlje Beneluxa, Njemačku, Austriju i Sloveniju. Ovo je značajno utjecalo na broj potencijalnih darivatelja s ciljem poboljšanja imunološke podudarnosti primatelja i darivatelja.

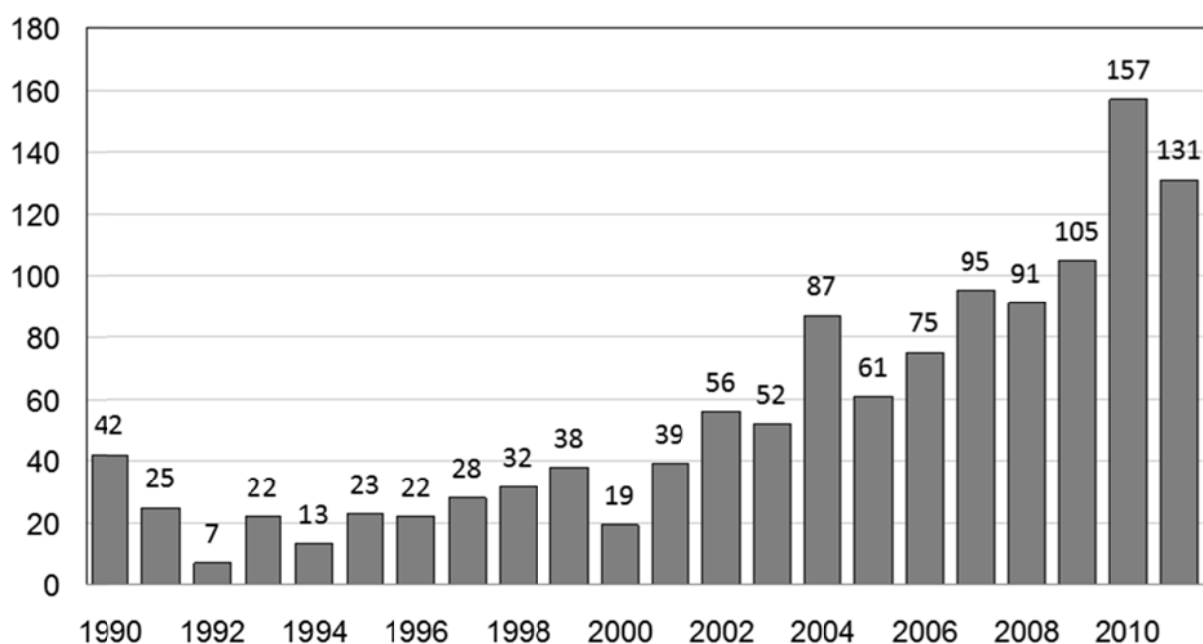
Ovaj niz promjena, uz osobitu požrtvovnost cjelokupnog uključenog medicinskog osoblja, omogućio je porast broja transplantacija bubrega i smanjenje

liste čekanja (Slika 1). Stoga danas Hrvatska zauzima prvo mjesto u svijetu po broju transplantacija jetre i bubrega na milijun stanovnika, te je prva u svijetu po broju realiziranih donora s 144 darivatelja od kojih su iskorišteni organi u 2011. godini (3).



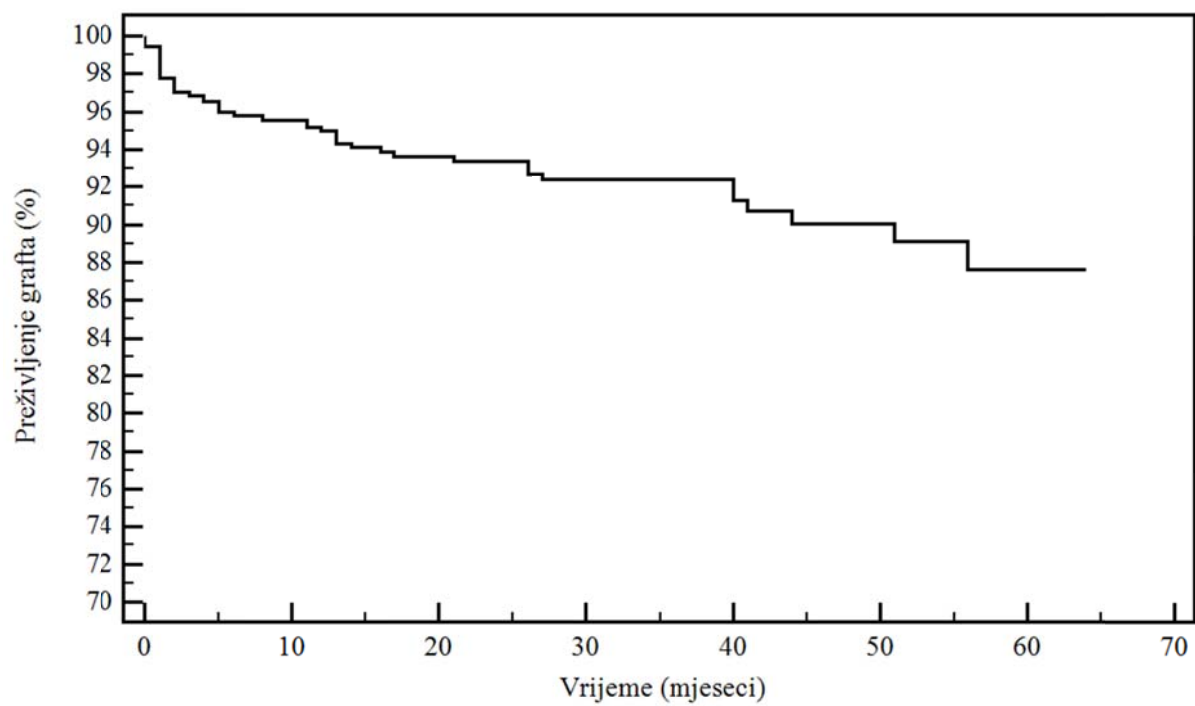
*Slika 1. Lista čekanja na transplantaciju pojedinog organa u Republici Hrvatskoj za razdoblje 2007-2011 godine.*

U stručnom smislu, transplantacija bubrega i postoperativna skrb predstavljaju izrazito zahtjevnu medicinsku uslugu. Ovi se zahvati stoga, obavljaju u vrhunski opskrbljenim centrima u specijaliziranim tercijarnim zdravstvenim ustanovama. U Klinici za urologiju KBC Zagreb kadaverične transplantacije bubrega se obavljaju od 1974. godine (prof.dr.sc. Mladen Vidović). Do 2012. godine obavljeno je više od 1300 transplantacija bubrega, uz značajan porast broja transplantacija u posljednjim godinama (Slika 2).

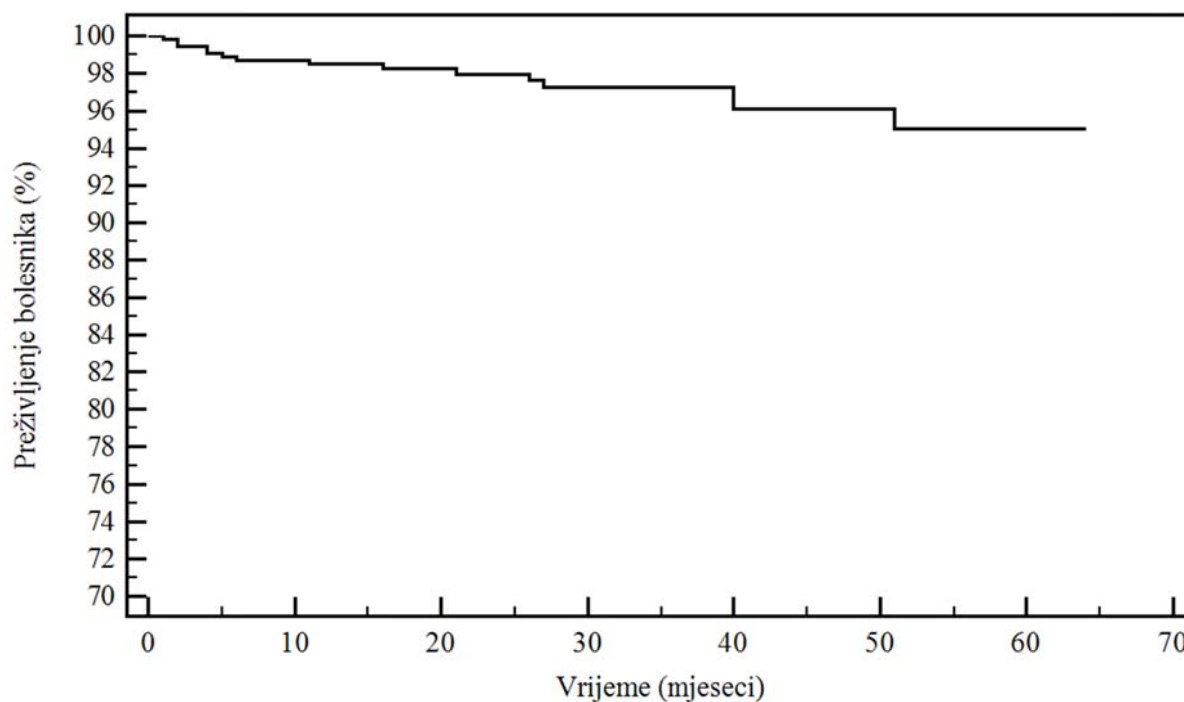


*Slika 2. Broj transplantacija bubrega po pojedinoj godini u Klinici za urologiju KBC Zagreb.*

Uspješnost transplantacije bubrega najbolje se očituje krivuljama preživljenja grafta i bolesnika. Učinjena je analiza preživljenja grafta i bolesnika za bolesnike transplantirane u KBC Zagreb u razdoblju od 1.1.2007. do 31.12.2011. Za sve bolesnike su bili dostupni podaci praćenja. 26 bolesnika je bilo mlađe od 18 godina te nisu uključeni u analizu. Kod 28 bolesnika je graft prestao funkcionirati, a dodatnih 15 bolesnika je umrlo u promatranom periodu. Jednogodišnje preživljenje grafta je 95.0%, a petogodišnje 87.6% (Slika 3). Jednogodišnje preživljenje bolesnika je 98.5%, a petogodišnje 95.1% (Slika 4). Navedeni rezultati su u skladu sa rezultatima najboljih svjetskih centara (4).



*Slika 3. Kaplan Meier krivulja petogodišnjeg preživljenja presatka nakon transplantacije bubrega u Klinici za urologiju KBC Zagreb.*



*Slika 4. Kaplan Meier krivulja petogodišnjeg preživljenja bolesnika nakon transplantacije bubrega u Klinici za urologiju KBC Zagreb.*

Ovakav uspjeh transplantacijskog programa svakako će dovesti do porasta broja bolesnika s morbiditetima vezanim uz transplantaciju bubrega. Tako i gubitka koštane mase nakon transplantacije bubrega, što predstavlja važan klinički problem. Poznato je da postoji značajan i ubrzan gubitak koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije, a objašnjava se utjecajem kortikosteroida, imunosupresivnih lijekova i imobilizacijom u ranom postoperativnom periodu. Gubitak koštane mase dovodi do povećanog rizika od fraktura a samim tim do povećanog morbiditeta i mortaliteta kod tih bolesnika (5-8). Utjecaj bisfosfonata pamidronata na prevenciju gubitka koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije bubrega je glavni cilj ovog istraživanja i disertacije.



## 1.1. Građa kosti

Kost predstavlja dinamični sustav koji je iznimno dobro prokrvljen i metabolički jako aktivan. Ona predstavlja najtvrdi oblik potpornog tkiva uz vezivno i hrskavično tkivo. Koštano tkivo je izgrađeno od dva različita elementa: stanice koštanog tkiva i međustanična tvar (matriks). Sam skelet čovjeka se sastoji od 220 kostiju i čini oko 15% tjelesne težine.

Za kost treba reći da mora udovoljiti kontradiktornim zahtjevima da bi ispunila svojih pet najvažnijih funkcija:

- a) **Potpora i pokretljivost:** kako cijelog tijela tako i njegovih dijelova od najmanjeg prsta do pokretljivosti cijelog tijela.
- b) **Zaštita:** skelet štiti unutrašnje organe od vanjske sile. Na primjer prsni koš štiti srce i pluća, lubanjske kosti štite mozak.
- c) **Skladištenje minerala:** skelet je najveće skladište minerala. 99% kalcija, 85% fosfata, 50% magnezija je pohranjeno u kostima. Oko 1-1.5kg kalcija je ugrađeno u skelet u obliku hidroksiapatita.
- d) **Skladište proteina matriksa:** mineralizirana kosti sadrži oko 50% organskog materijala: 25% matriks i 25% voda. Kolagen tipa I čini oko 90% matriksa, a 10 % su ostali proteini kao glikoprotein, osteokalcin, osteonektin, koštani sialoprotein, osteopontin, fibronektin i različiti proteoglikani. Sve ove proteine sintetiziraju i izlučuju osteoblasti, a imaju mnogostruke funkcije: formiranje kristala, vezanje kalcijevih kristala, olakšanje vezanja koštanih stanica. Kolagen dodatno direktno utječe na funkciju koštanih stanica kao što je apoptoza, proliferacija i diferencijacija stanica. Koštani matriks dodatno sadrži i proteine kao što

su koštani morfogenetski proteini, trombospondin 2, metaloproteinaze, faktore rasta i citokine te TGF $\beta$ .

- e) **Endokrina regulacija:** Skelet sudjeluje i u endokrinnoj regulaciji preko mehanizama koji uključuju leptin i osteokalcin, putem koje utječu na razinu glukoze u krvi i adipozitet.

Najvažnija uloga kosti, svakako je u potpori i pokretljivosti tijela. Kost treba biti čvrsta i otporna na deformiranje da bi mogla podnositi teret. Kost, također, mora biti fleksibilna s mogućnošću apsorpiranja energije kako bi se mogla skraćivati i produljivati pri kompresiji. Čvrstoća kosti određena je njezinom strukturom i sastavom. Uz to treba zadovoljiti uvjet da je lagana da bi se lakše pokretala. Kada je kost previše fleksibilna, pod utjecajem sile prekomjerno se deformira te može doći do loma. Kost, dakle, treba biti čvrsta i jaka, a istovremeno elastična i lagana.

Na rentgenskim snimkama ili biopsiji kosti, stoga, razlikujemo dvije glavne strukture kosti.

- a) **Kortikalna kost.** Ove kosti su vrlo guste i čvrste i imaju spori metabolizam/pregradnju. Ove kosti se sporije resorbiraju i pregrađuju od trabekularnih kostiju. Primjer su duge kosti, koje uglavnom služe za dizanje tereta i pokretanje, važno je da budu čvrste i lagane. One zbog toga imaju cjevastu strukturu.
- b) **Trabekularna kost.** Primjer su kosti kralješnice koje imaju poroznu trabekularnu strukturu. Radi ove strukture u mogućnosti su apsorbirati puno više energije i podnijeti veće deformacije nego cjevaste kosti (9). Ovdje pripadaju i kosti lubanje, prsnog koša i zdjelice.

Oko 80% skeleta čine kortikalne kosti, a samo 20% trabekularne kosti. Ova dva tipa kosti imaju različiti stupanj koštane pregradnje. Kortikalna kost je gusta i oko 90% kalcificirana. Ima mali omjer površine i volumena te se sporo pregrađuje. S druge strane, trabekularna kost ima poroznu strukturu i posljedično veliku površinu. Oko 25% trabekularne kosti se remodelira unutar godinu dana nasuprot samo 2.5% kortikalne kosti. Stoga se smanjenje koštane mase i promjene koštanog metabolizma prvo uočavaju na trabekularnim kostima.

Važno je spomenuti udio trabekularne kosti u pojedinim dijelovima skeleta kako slijedi:

- lumbalna kralješnica 75%
- peta 70%
- proksimalni femur 50-75%
- distalni radijus 25%
- srednji dio radijusa <5%

### **1.1. Stanice koštanog tkiva**

Osnovnu strukturu kosti čine koštane stanice te međustanična tvar sastavljena od kolagena tipa I prožetog kristalima hidroksiapatita. Stanice koštanog tkiva čine sustav koji je odgovoran za obnovu, održavanje i prilagodbu kosti. U osnovi ga čine dva tipa stanica, osteoblasti koji stvaraju „novu“ kost te osteoklasti koji resorbiraju „staru“ kost.

- *Osteoblasti* su stanice mezenhimalnog podrijetla iz koštane srži. Sporo proizvode novu kost, kroz nekoliko tjedana zamijene koštano tkivo koje su osteoklasti prethodno razgradili. Osnovna im je funkcija proizvodnja

koštanog matriksa, najviše kolagena tipa I, osteokalcina (koji je specifičan za osteoblaste), ostenektina i BMP-ova te regulacija djelovanja osteoklasta. Osteoblasti sadrže receptor za estrogen. Konačna sudbina osteoblasta je da može postati osteocit, pokrovna stanica ili odumrijeti apoptozom.

- *Osteoklasti* su polinuklearne stanice nastale spajanjem prekursorskih stanica monocitno-makrofagne loze. To su stanice koje u kratkom vremenu mogu resorbirati staru i slabu kost. Stanična membrana u strani okrenutoj površini kosti sadrži mnogobrojne nabore. Osteoklasti otpuštaju veliku količinu proteolitičkih i ostalih enzima u prostor između nabrane membrane i kosti. Ovi enzimi otapaju minerale i nešto koštanog matriksa, ostatak se fagocitira i metabolizira u citoplazmi osteoklasta. Ako su trabekule kosti tanke, onda se može dogoditi da osteoklasti perforiraju zid trabekule te time nepovratno oslabe koštanu strukturu. Diferencijacija i regulacija aktivnosti osteoklasta je pod kontrolom velikog broja hormona (npr. paratiroidni hormon, estrogeni, androgeni, leptin i tiroidni hormon) te citokina. Utjecaj estrogena na estrogeni receptor osteoklasta se očituje u inhibiciji razvoja osteoklasta. Diferencijacija osteoklasta se zbiva na ili u neposrednoj blizini koštane površine, u bliskom dodiru s osteoblastima. Osteoblasti imaju vrlo značajnu ulogu u razvoju osteoklasta jer su ključni izvor faktora rasta osteoklasta (10). Resorpcija kosti je energetski zahtjevan proces o čemu najviše govori veliki broj mitohondrija u citoplazmi osteoklasta.
- *Osteociti* su osteoblasti ukopani u koštanu međustaničnu tvar. To su najbrojnije koštane stanice, a gotovo svaki deseti osteoblast koji je na

površini kosti ostane ukopan u novostvorenom matriksu i predstavlja novi osteocit. Oni sadrže receptore za različite hormone poput paratiroidnog hormona i spolnih hormona. Nalaze se u prostorima unutar kosti koje nazivamo lakune, a međusobno i sa pokrovnim stanicama su povezani tankim kanalima (canaliculi) kroz koje se pružaju citoplazmatski izdanci te tako čine jedan cirkulirajući komunicirajući sustav. Osteociti su aktivno uključeni u kontrolni mehanizam i remodeliranje kosti. Također imaju i mehanosenzornu funkciju i sudjeluju u funkcijskoj prilagodbi kosti. Koštana masa je razmjerna broju i gustoći osteocita.

- *Pokrovne stanice* su plosnate stanice koje pokrivaju 80-95% unutrašnje površine kosti. Nastaju iz osteoblasta, a čine zaštitni sloj i „nadzorni sustav“ kosti. Smatra se da sudjeluju u aktivaciji osteoklasta. Uklanjaju i ostatke kolagena koji zaostaje nakon osteoklasta te time čiste površinu kosti i započinju formiranje nove kosti.

## **1.2. Pregradnja kosti**

Koštana pregradnja je proces kojim se kost trajno obnavlja. Osnovna zadaća koštane pregradnje je uklanjanje oštećenih dijelova kosti, obnavljanje kosti te održavanje homeostaze kalcija u organizmu. Proces pregradnje kosti se još uvijek aktivno istražuje i proučava. Jedan ciklus pregradnje traje prosječno 120 dana i može se podijeliti u šest faza.

- **Faza mirovanja:** Pokrovne stanice preko tanke kolagenske membrane oblažu površinu kosti

- **Faza aktivacije:** Površina mirne kosti se priprema za resorpciju. Povlačenje pokrovnih stanica i uklanjanje tanke kolagenske membrane s površine kosti u čemu sudjeluju metaloproteinaze osteoblasta.
- **Faza resorpcije:** Aktivacija i fuzija prekursora osteoklasta, stvaranje nabrane membrane osteoklasta. Osteoklasti resorbiraju kost, stvaraju lakune, a potom migriraju ili ulaze u proces apoptoze.
- **Faza promjene:** Preteče osteoblasta dolaze na mjesto ranije resorpcije dok monociti i pokrovne stanice uklanjaju ostatke resorpcije i pripremaju površinu lakune za novu kost.
- **Faza ranog stvaranja:** Osteoblasti proizvode osteoid.
- **Faza kasnog stvaranja:** Mineralizacija osteoida.
- **Faza mirovanja:** Osteoblasti se pretvaraju u pokrovne stanice, ili ako su ostali zarobljeni u novostvorenoj kosti pretvaraju se u osteocyte.

Faza resorpcije traje oko dva tjedna dok mineralizacije može trajati i nekoliko mjeseci. Koštana pregradnja odvija se tijekom cijelog života, a najizraženija je u periodu rasta i razvoja (11).

### **1.3. Uloga lokalnih citokina, lokalnih čimbenika rasta i prostaglandina**

Za održavanje normalne koštane mase i mikrostrukture kosti važno je da su procesi razgradnje i stvaranja nove kosti savršeno izbalansirani. Ovome doprinosi neposredna povezanost i izmjena informacija o aktivnosti između osteoblasta i

osteoklasta. Za odvijanje procesa pregradnje nužni su hormoni, ali i lokalni citokini odnosno signali koje se izmjenjuju između koštanih stanica. To znači da su resorpcija i stvaranje kosti zajednički koordinirani, te da iste tvari koje djeluju na osteoblaste, također djeluju i na funkciju osteoklasta (Tablica 1).

Tablica 1. Čimbenici koji utječu na proces pregradnje kosti (12).

<b>Resorpcija kosti</b>	
<b>Porast</b>	<b>Smanjenje</b>
<i>Sistemska</i>	
PTH	Kalcitonin
PTHrP	Estrogen
Kalcitriol	Testosteron
Tiroksin	
Kortikosteroidi	
<i>Lokalni</i>	
IL-1	TGFβ
IL-6	IFNγ
IL-11	IL-4
IL-17	IL-10
FGFovi	IL-13
Prostaglandini	OPG
RANKL	IL-1ra
TNFα	
TNFβ	
TGFα	
M-CSF	
GM-CSF	
SCF	
<b>Stvaranje kosti</b>	
<b>Porast</b>	<b>Smanjenje</b>
<i>Sistemska</i>	
Fluor	Kortikosteroidi
PTH	
Prostaglandini	
Citokini	
<i>Lokalni</i>	
BMPovi	
TGFβ	
IGFovi	
FGFovi	
PDGFovi	
Prostaglandini	

Za spregnutu regulaciju koštane pregradnje je osobito važan RANK/RANKL/OPG sustav citokina (13). Osteoblasti proizvode osteoprotegerin (OPG), a on blokira diferencijaciju osteoklasta iz prekursorskih stanica te time smanjuje resorpciju kosti. Smatra se da je u velikom dijelu osteoprotektivni učinak estrogena povezan s njegovim poticanjem ekspresije OPG-a u osteoblastima (14).



RANKL je glavni stimulator sazrijevanja osteoklasta i iznimno je bitan u njihovom preživljavanju. Prekursor osteoklasta na svojoj površini sadrži receptor za aktivaciju jezgrenog faktora kapa B (RANK; engl. receptor activator nuclear factor kappa B) za kojeg se veže RANKL. Porast ekspresije RANKL-a povećava resorpciju i gubitak kosti. RANKL proizvode osteoblasti i aktivirani T limfociti. Za njega specifičan receptor RANK nalazi se na membrani osteoklasta, dendritičnih stanica, stanica glatkih mišića te endotelnim stanicama.

OPG regulira učinak RANKL-a, a porast ili smanjenje proizvodnje OPG-a i RANKL-a je pod utjecajem mnogobrojnih hormona, citokina i lijekova. Na primjer:

- TGF $\beta$  stimulira nastanak OPG-a
- PTH povećava RANKL, a smanjuje OPG
- Vitamin D3 povećava nastanak RANKL-a
- Glukokortikoidi povećavaju RANKL, a smanjuju OPG
- Estrogeni povećavaju nastanak OPG-a

#### **1.4. Kostiranjive u osteoporozi**

Koštana pregradnja se prvenstveno odvija na unutrašnjoj strani kosti, endostiju. Kostir koje imaju veliki udio trabekularne kosti imaju i najveću površinu za pregradnju (npr. kralješci, vrat femura). Radi izrazito velike površine trabekularne kosti one su podložne resorpciji i do pet puta većoj nego kortikalna kost. Prvo dolazi do resorpcije srednjih trabekula kosti pogotovo onih smještenih na tzv. horizontalnim linijama stresa. Vertikalni stupci, koji i nose veći teret, dulje ostaju netaknuti i često se mogu primijetiti na rendgenskim snimkama kao vertikalne linije. Studije su pokazala da je koštana masa odgovorna za 50-80% čvrstoće kosti te je, stoga, gubitak iste

značajan faktor rizika za prijelome. Mnogobrojne prospektivne studije su pokazale da se rizik za frakturu povećava eksponencijalno sa smanjenjem gustoće kosti, smanjenje od 10-15% udvostučuje rizik za frakturu.

### **1.5. Renalna osteodistrofija**

Kod zdravih ljudi bubrezi su zaduženi za regulaciju homeostaze kalcija i fosfora putem reapsorpcijskog mehanizma u bubrežnim tubulima. Kod bolesnika sa smanjenom bubrežnom funkcijom ova homeostaza je poremećena te imaju različite promjene u metabolizmu i razini kalcija, fosfora, paratiroidnog hormona, vitamina D i faktora rasta fibroblasta 23 (FGF 23) (15). Do ovih poremećaja dolazi vrlo rano, već kada je glomerularna filtracija manja od 60 ml/min (16). Tipični poremećaj elektrolita u kroničnom bubrežnom zatajenju je hiperfosfatemija i hipokalcemija što dovodi do porasta paratiroidnog hormona (17, 18). Renalna osteodistrofija predstavlja složeni poremećaj metabolizma kosti koji se razvija kod bolesnika s kroničnim bubrežnim zatajenjem te bolesnika na dugotrajnoj dijalizi. Važno je napomenuti da je klasični naziv renalna osteodistrofija nedavno zamijenjen s nazivom kronična bubrežna bolest – mineralni i koštani poremećaj (CKD-MBD, engl. Chronic Kidney Disease - Mineral and Bone Disorder), a karakteriziraju ga tri komponente: poremećaj laboratorijskih nalaza (kalcija ili fosfata ili PTH ili vitamina D), koštana bolest i vaskularne kalcifikacije (19). Ovo stanje je često praćeno bolovima u kostima, brojnim frakturama i kalcifikacijama izvan kosti. Važno je naglasiti da ove promjene metabolizma dovode do porasta kardiovaskularnih kalcifikacija te posljedičnog porasta morbiditeta i mortaliteta ovih bolesnika (19, 20).

Koštani poremećaji u bolesnika s renalnom insuficijencijom posljedica su djelovanja mnogih čimbenika o kojima ovisi oblik i proširenosti koštanih promjena. Neki čimbenici koji dovode do renalne osteodistrofije su: samo bubrežno zatajenje, dijabetes, amiloidoza, dob, deficit kalcitriola, hipokalcijemija, hiperfosfatemija, poremećaji metabolizma PTH i vitamina D, dijeta, oblik i trajanje dijalize, lijekovi te nakupljanje aluminija u koštanom tkivu.

Renalna osteodistrofija je kombinacija tri podgrupe poremećaja i to hiperparatiroidizma, osteomalacije i osteoporoze. Za konačnu dijagnozu i potvrdu renalne osteodistrofije potrebno je učiniti biopsiju kosti, što se često ne radi jer je to invazivna i skupa pretraga. Histološki, renalna osteodistrofija klasificira se na osnovu stupnja pregradnje, mineraliziranosti kosti te volumena kosti (19, 21).

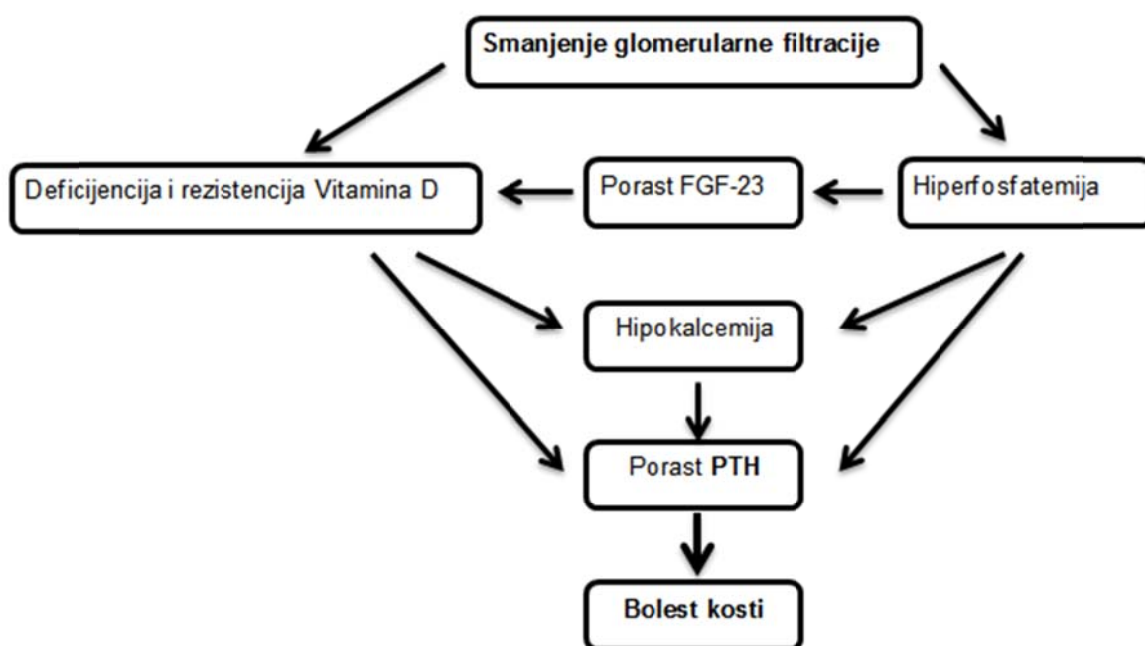
Razlikujemo četiri osnovna oblika bolesti koja na osnovi povišene ili snižene razine PTH možemo podijeliti u dvije skupine:

- poremećaji karakterizirani ubrzanom koštanom pregradnjom: osteitis fibrosa i miješana osteodistrofija
- poremećaji karakterizirani niskim stupnjem koštane pregradnje: osteomalacija i adinamična koštana bolest

Osnovne histološke karakteristike navedenih oblika su:

- **Osteitis fibrosa** pretežno je posljedica sekundarne hiperparatireoze (patofiziologija sekundarne hiperparatireoze je prikazana na Slika 5). Trabekularne su površine povećane, povećan je broj osteoblasta i osteoklasta te erodiranih površina.
- **Miješana osteodistrofija** karakterizirana je ubrzanom pregradnjom kosti, ali i slikom osteomalacije.

- **Osteomalacija** je karakterizirana smanjenom pregradnjom kosti, povećanom površinom, volumenom i debljinom osteoida. Većinom je bila uzrokovana primjenom aluminija u medicinskim postupcima. Danas je incidencija intoksikacije aluminijem vrlo niska jer je zakonskim propisima regulirana priprema vode za dijalizu. Osim toga, aluminij hidroksid više se ne koristi kao vezač fosfata.
- **Adinamična koštana bolest** karakterizirana je malim brojem osteoblasta te posljedično usporenom i smanjenom pregradnjom kosti što je posljedica izrazito suprimiranog lučenja PTH.



Slika 5. Metabolizam kalcija i fosfata kod kronične bubrežne bolesti (22).

## **1.6. Poremećaji metabolizma kosti nakon transplantacije bubrega**

Transplantacija bubrega i uspostava dobre bubrežne funkcije, ispravljaju većinu endokrinih i egzokrinih funkcija bubrega te metaboličkih poremećaja koji su doveli do koštane bolesti. Međutim, poremećaji koštanog metabolizma koji su nastali prije transplantacije perzistiraju dijelom i nakon transplantacije. Naime gotovo svi bolesnici imaju sniženu koštanu masu, većinom u trabekularnoj kosti, u vrijeme transplantacije bubrega i nakon transplantacije (6, 8, 23). Nadalje, više studija je potvrdilo značajan dodatni gubitak koštane mase nakon transplantacije bubrega (24). Stoga je osteoporoza lumbalne kralježnice prisutna kod 17-49%, na vratu femura kod 11-56% te na radijusu kod 22-52% bolesnika (24-27). Više od 50% bolesnika u periodu 8 godina nakon transplantacije bubrega su osteoporotični s posljedičnim porastom rizika od frakture kosti (28).

Izražen gubitak koštane mase tijekom prve posttransplantacijske godine prvenstveno je posljedica davanja viših doza imunosupresivnih lijekova, prvenstveno kortikosteroida (24). Naime, kortikosteroidi kao i ostali imunosupresivni lijekovi (npr. ciklosporin A, takrolimus) imaju negativno djelovanje na koštani metabolizam te dovode do smanjenja koštane mase. Gubitak koštane mase najizraženiji je u tijeku prve posttransplantacijske godine, a osobito u tijeku prvih šest mjeseci (24, 29, 30) i prvenstveno zahvaća trabekularnu kost, dok se gustoća kortikalne kosti može čak i povisiti (24).

Važno je naglasiti da je utvrđeno postepeno poboljšanje gustoće koštane mase nakon transplantacije bubrega kroz 10 godina (31). Dodatno, kod bolesnika koji su promatrani između 6 i 20 godina nakon transplantacije bubrega pokazao se

identičan srednji godišnji gubitak koštane mase kao i normalni gubitak u ostaloj populaciji povezan sa starenjem (32).

### **1.7. Prijelomi kosti nakon transplantacije bubrega**

Klinički gledano, rizik za prijelom kosti se povećava sa smanjenjem gustoće koštane mase, koja predstavlja jedan od najsnažnijih prediktora za razvoj osteoporotičnih fraktura kosti (33-35). Koštane frakture nakon transplantacije imaju značajan učinak na rehabilitaciju bolesnika, kvalitetu života, morbiditet i porast troškova zdravstvene skrbi. Nakon transplantacije bubrega bolesnici imaju do četiri puta viši rizik za frakturu kosti nego opća populacija (6, 7). Rizik je i veći za bolesnike koji su ranije primali kortikosteroide, starije bolesnika, žene u menopauzi te dijabetičare. Koštane frakture se obično javljaju u području kuka (prevalencija 10-50%) te kralješcima (prevalencija 3-10%) (36). Učestalost koštanih fraktura nakon transplantacije organa je 18-40% u prvoj godini nakon transplantacije, s tim da je većina fraktura u području kralježaka (25, 37, 38). Velika studija bolesnika s kroničnim zatajenjem bubrega je pokazala da je transplantacija bubrega povezana s 34% povišenim rizikom za frakturu kuka u odnosu na bolesnike koji su ostali na dijalizi (5).

### **1.8. Učinak imunosupresivne terapije na metabolizam kosti**

Da bi se izbjeglo odbacivanje organa imunosupresivna terapija je potrebna kod svih bolesnika koji su podvrgnuti transplantaciji organa. Od 1983. uobičajeni imunosupresivni protokol je bio ciklosporin A, azatioprin i kortikosteroid. U posljednjih

20-tak godina mikofenolat mofetil je zamijenio azatioprin, takrolimus se pojavio kao moguća alternativa ciklosporinu A. A dodatno se koriste i mTOR inhibitori kako što su everolimus i sirolimus u kombinaciji s nekim od ovih lijekova. Mono i poli klonska antitijela se koriste u indukcijskoj terapiji ili u slučaju odbacivanja organa. Trenutno nema podataka o mogućem učinku ovih antitijela na koštani metabolizam.

Stupanj gubitka koštane mase je izravno proporcionalan dozi i trajanju kortikosteroidne terapije (39, 40). Primjena kortikosteroida čak i u visokim dozama, ali u kratkom vremenskom intervalu (dani do tjedni) neće imati klinički značajno smanjenje koštane mase. No nakon primjene u višemjesečnom periodu očitovat će se klinički značajnim smanjenjem koštane mase. Tako je prednizolon u dozi od 10mg dnevno dostatan za uzrokovanje gubitka koštane mase u prvih šest mjeseci nakon početka primjene. Čak i dugotrajna primjena 7.5mg prednizolona dnevno može dovesti do klinički značajnog gubitka koštane mase (41). Populacije od posebnog rizika su djeca, mladi muškarci i žene u menopauzi.

Kortikosteroidi utječu na metabolizam kosti na nekoliko načina. Jedan je supresija aktivnosti osteoblasta uz povećanje aktivnosti osteoklasta (42, 43). Iako mehanizam pojačane resorpcije kosti nije do kraja razjašnjen, smatra se da važnu ulogu ima povećana produkcija liganda receptor aktivatora NF $\kappa$ B (RANKL, engl. Receptor Activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B Ligand) uz smanjenu produkciju osteoprotegerina (OPG), te posljedično povećane diferencijacije i preživljenja osteoklasta.

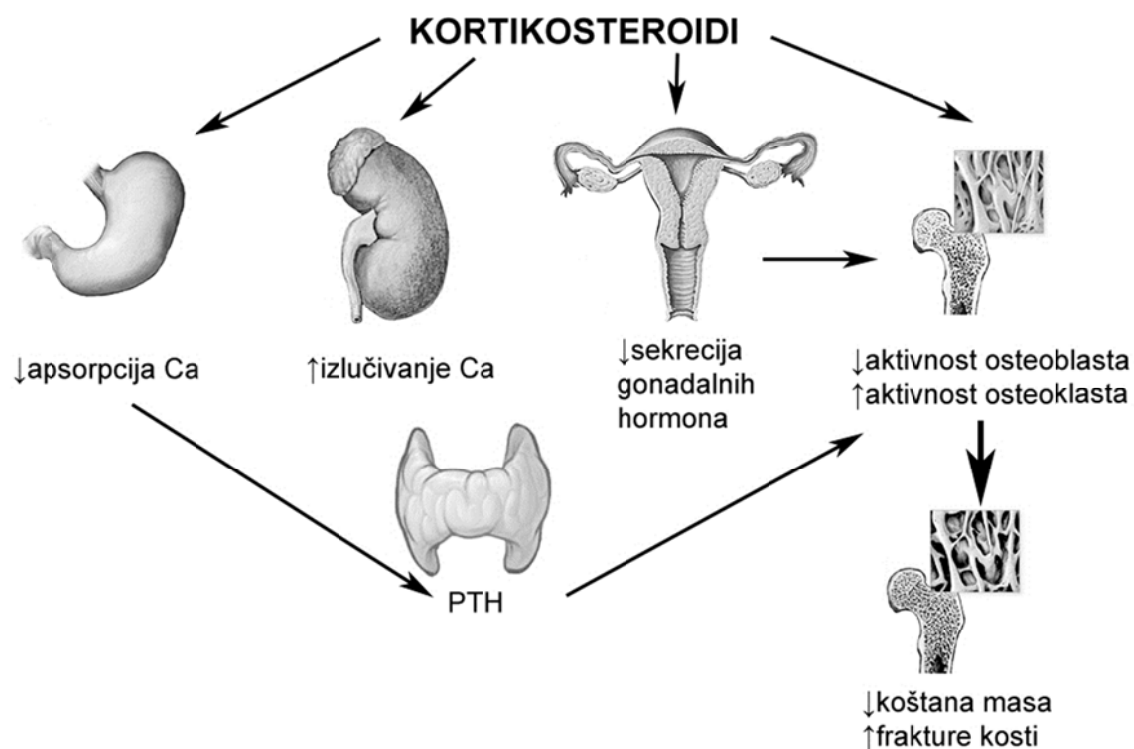
Kortikosteroidi smanjuju ekspresiju gena važnih za formiranje kosti poput kolagena tipa I, čimbenika poticanja rasta  $\beta$  (TGF $\beta$  engl. Transforming Growth Factor- $\beta$ ), fibronektina i inzulinu sličanog čimbenika rasta 1 (IGF-1 engl. Insulin-like growth factor I) (44). Dodatno, kortikosteroidi smanjuju apsorpciju kalcija u

gastrointestinalnom sustavu i povećavaju izlučivanje kalcija u bubregu što rezultira gubitkom kalcija te posljedično dovodi do povećane resorpcije kosti (45, 46). Zbog gubitka kosti, posljedično, dolazi do povećanja produkcije paratiroidnog hormona (PTH) (43). Kortikosteroidi utječu i na smanjeno lučenje gonadotropina i adrenokortikotropnog hormona (ACTH) što dovodi do smanjenja gonadne produkcije estrogena i androgena, a time indirektno dolazi do smanjenja koštane mase (47, 48). Svi ovi učinci zajedno smatraju se odgovornima za gubitak koštane mase za 6,8%, u razdoblju od 6 mjeseci nakon transplantacije bubrega, odnosno za gubitak koštane mase od 8,8% tijekom 18 mjeseci (24). Posljedično ovi bolesnici imaju viši rizik za prijelom kostiju (49).

Detaljno prikazano, kortikosteroidi imaju višestruki utjecaj na koštani metabolizam (Slika 6):

- inhibicija proliferacije, diferencijacije i funkcije osteoblasta
- povećana apoptoza osteoblasta
- stimulacija funkcije osteoklasta
- smanjenja apsorpcija kalcija u crijevima
- povećana ekskrecija kalcija putem bubrega
- povećana sekrecija PTH
- smanjenja sekrecija kalcitonina
- smanjeni učinak vitamina D
- smanjenje remodeliranja kosti
- pojava aseptične koštane nekroze
- povećana proizvodnja kolagenaze
- smanjena proizvodnja kortikotropina i gonadotropina.





*Slika 6. Negativni učinak kortikosteroida na homeostazu kalcija, aktivnost koštanih stanica, koštanu masu i PTH. Prilagođeno iz (50)*

Učinak ostalih imunosupresivnih lijekova na koštani metabolizam još nije do kraja istražen, a prikazan je u Tablici 2. Podaci o učinku kalcineurinskih inhibitora su kontradiktorni u različitim in vitro i in vivo studijama. Kod štakora ciklosporin A smanjuje koštanu masu, pogotovo trabekularne kosti, ali isti učinak kod ljudi još nije potvrđen. Kod ljudi ciklosporin A i takrolimus mogu doprinijeti smanjenju koštane mase smanjenjem mRNA za osteoprotegerin te pojačanom ekspresijom gena za RANKL u osteoblastima (51-53). Učinak ostalih lijekova kao što su sirolimus, MMF i azatioprin su slabo istraženi ali se doima da imaju nikakav do mali učinak na koštani metabolizam.

Tablica 2. Učinak ostalih imunosupresiva na koštani metabolizam

Lijek	Učinak
<b>Ciklosporin A</b>	Resorpcija kosti veća nego izgradnja
<b>Takrolimus</b>	Resorpcija kosti veća nego izgradnja (vjerojatno manje izražena nego kod ciklosporina A)
<b>Sirolimus</b>	In vivo i in vitro inhibira stvaranje osteoklasta (54)
<b>Azatioprin</b>	nema učinka na koštani metabolizam
<b>Mikofenolat mofetil</b>	nema učinka na koštani metabolizam
<b>mTOR inhibitori</b>	Hipofosfatemična osteomalacija radi porasta hiperfosfaturije Smanjenje rasta kosti u duljinu

### 1.9. Mjerenje kvalitete kosti / koštane mase

Najtočnija dijagnostička metoda za procjenu tipa renalne osteodistrofije je transilijakalna biopsija kosti s dvostrukim tetraciklinskim obilježavanjem te kasnija histomorfometrijska analiza (55). Biopsija kosti je zlatni standard, ali predstavlja invazivan i bolan zahvat te se ne koristi rutinski u kliničkoj praksi.

S druge strane, DXA denzitometrija je široko korištena, ne invazivna metoda mjerenja mineralne gustoće koštane mase koja se koristi u dijagnostici i praćenju učinka liječenja osteopenije/osteoporoze. Samo snimanje traje kraće od 10 minuta, podrazumijeva malu dozu zračenja (cca  $<1\mu\text{Sv}$ ) i ima ekonomski prihvatljivu cijenu. Snimanje se obično provodi na lumbalnoj kralježnici, femuru i radijusu. Rezultat se izražava kao apsolutna vrijednost gustoće koštane mase odnosno BMD-a u  $\text{g/cm}^2$ , te kao T i Z vrijednosti.

- T vrijednost: standardna devijacija gustoće kosti od zdrave mlade populacije u dobi od 30 godina, istog spola

- Z vrijednost: standardna devijacija gustoće kosti u odnosu na populaciju iste dobi i spola

Bolesnici se potom klasificiraju po definiciji za osteoporozu Svjetske zdravstvene organizacije (Tablica 3) (56).

*Tablica 3. Definicija osteoporoze po Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji.*

Klasifikacija	Definicija	Rizik za frakturu
<b>Normalno</b>	T vrijednost > -1	jako nizak
<b>Osteopenija</b>	T vrijednost -1 do -2.5	4X
<b>Osteoporoza</b>	T vrijednost < -2.5	8X
<b>Teška osteoporoza</b>	T vrijednost < -2.5 plus anamneza jednog ili više prijeloma nakon male traume	20X

Druga neinvazivna dijagnostička metoda je kvantitativna kompjuterizirana tomografija. Ona točno mjeri BMD i pruža trodimenzionalnu sliku sa odvojenom procjenom kortikalne i trabekularne kosti. Ova tehnika omogućava volumetrijsko mjerenje kosti  $\text{g/cm}^3$  (57). Inače, ova metoda se rijetko koristi radi viših troškova te veće doze zračenja.

Kao jeftina, brza i jednostavna metoda, preporuča se i kvantitativna ultrazvučna denzitometrija, ali je manje pouzdana i koristi više kao „screening“ metoda (58).

Dodatne informacije o stupnju koštane pregradnje može pružiti razina iPTH. Nadalje, razlikujemo veći broj biokemijskih pokazatelja koštane pregradnje, a to su bjelančevine ili enzimi koji nastaju za vrijeme procesa izgradnje ili razgradnje koštanog tkiva. Ove tvari mjere se u serumu i urinu. Biljezi koštane izgradnje su koštana alkalna fosfataza, osteokalcin i prokolagen tipa 1. Biljezi koštane razgradnje su razgradni produkti kolagena tipa 1, a to su deoksipiridinolin (DPD) te karboksiterminalni (CTX) i aminoterminalni telopeptid kolagena tipa 1 (NTX), te tartarat otporna kisela fosfataza (TRAP) koju proizvode osteoklasti za vrijeme

razgradnje kosti. Povećani biljezi koštane razgradnje u krvi predviđaju rizik prijeloma neovisno o vrijednosti koštane gustoće.

### **1.10. Prevencija gubitka koštane mase nakon transplantacije bubrega**

Gubitak koštane mase kod bolesnika nakon transplantacije bubrega predstavlja važan klinički problem za koji još uvijek ne postoji standardni pristup skrbi. Nekoliko studija je utvrdilo da je gubitak koštane mase najizraženiji u ranom posttransplantacijskom tijeku, odnosno najviše u tijeku prvih 6 mjeseci nakon transplantacije bubrega, s kasnijim usporenjem smanjenja ili stabilizacijom (24, 29, 59, 60). Više je razloga za ovaj pojačani gubitak koštane mase nakon transplantacije, među kojima se terapija kortikosteroidima smatra jednim od važnijih faktora, s obzirom da se kortikosteroidi koriste kao imunosupresivi nakon transplantacije bubrega kao i za liječenje epizoda akutnog odbacivanja transplantiranog bubrega (61).

Kako je gubitak koštane mase najizraženiji u ranom periodu nakon transplantacije bubrega važno je pokušati uvesti mjere profilakse i liječenja.

#### **1.10.1. Preporuke Nacionalne zaklade za bubreg**

Osnovne mjere i preporuke od strane Nacionalne zaklade za bubreg (engl. National Kidney Foundation) (55):

- koristiti najnižu moguću dozu kortikosteroida
- prestanak pušenja

- vježbanje
- liječenje trajnog hiperparatiroidizma
  - optimizacija razine kalcija
  - optimizacija metabolizma vitamina D
  - moguća primjena kalcimimetika
  - paratireoidektomija
- izbjegavanje diuretika Henleove petlje
- nadoknada insuficijentne gonadalne i tiroidne funkcije

#### *1.10.2. Nadomjestak kalcija i vitamina D*

Metabolizam vitamina D je poremećen kako prije tako i nakon transplantacije bubrega. Moguće je kod bolesnika s dobrom funkcijom transplantiranog bubrega i normalnim serumskim vrijednostima kalcija dodatno davati kalcij (1000 – 1500 mg/dan) i vitamin D u obliku kolekalciferola ili ergokalciferola (400 – 800 IU/dan) s ciljem smanjenja gubitka koštane mase nakon transplantacije (62). Male doze (0.25-0.5 µg/dan) aktivnog vitamina D – alfakalcidiol, doxerkalciferol ili kalcitriol također mogu imati dobar učinak na BMD na lumbalnoj kralježnici i femuru kod bolesnika nakon transplantacije bubrega (7, 63).

#### *1.10.3. Kalcitonin*

Primjena kalcitonina (kalcitonin lososa 200 IU/dan intranazalno) je pokazala značajno poboljšanje BMD mjereno denzitometrijom na lumbalnoj kralježnici nakon transplantacije bubrega (64) i prevenciju kortikosteroidnog gubitka koštane mase (62). Prikazan je tek ograničeni učinak koji u kombinaciji s visokom cijenom ovog

liječenja nije doveo do širokog prihvatanja ove metode liječenja postransplantacijske osteoporoze.

#### *1.10.4. Nadomjesno hormonsko liječenje*

Tek je nekoliko malih studija procijenilo učinak hormonskog nadomjesnog liječenja testosteronom ili selektivnim modulatorima estrogenih receptora na gubitak koštane mase. Nadoknada estrogena smanjuje gubitak koštane mase kod bolesnica sa smanjenim razinama estrogena (65) te povećava BMD kod bolesnica nakon transplantacije jetre (66). No uvijek treba imati na umu potencijalni negativni kardiovaskularni učinak nadomjesnog liječenja estrogenima. Nadomjesno liječenje testosteronom povećava BMD kod hipogonadalnih muškaraca (67), ali nedostaju istraživanja kod transplantiranih bolesnika.

#### *1.10.5. Bisfosfonati*

Po kemijskoj građi bisfosfonati su sintetski analozi pirofosfata. Prisutni su kao preparati za oralnu (alendronat, klodronat, etidronat, risedronat) i intravensku primjenu (ibandronat, pamidronat, zoledronat). Oralno primijenjeni su učinkoviti u liječenju postmenopauzalne osteoporoze. Važno je spomenuti da nakon peroralnog unošenja mogu izazvati oštećenja jednjaka te se stoga primjenjuju na prazan želudac, s dosta tekućine i zadržavanjem u uspravnom položaju (stajanje, hodanje) tijekom pola do jedan sat.

Jače potentni bisfosfonati primjenjuju se intravenski i učinkoviti su u liječenju koštanih promjena povezanih s malignim bolestima (multipli mijelom, metastatske promjene kostiju, hiperkalcemija uz malignu bolest) i Pagetove bolesti (68). U

sniženoj dozi se mogu primjenjivati i u liječenju postmenopauzalne osteoporoze, kada bolesnici imaju izražene gastrointestinalne nuspojave (69).

Bisfosfonati na smanjenje resorpcije kosti djeluju na nekoliko načina. Prvo, imaju jak afinitet za kosti u kojima se nakupljaju i relativno čvrsto vežu za kristale hidroksiapatita te sprječavaju njegovo otapanje od strane osteoklasta (70). Drugo, dijelom budu fagocitirani od osteoklasta gdje utječu na stanični metabolizam na nekoliko načina. Najvažnije, utječu na put mevalonata, koji je značajan u posttranslacijskoj modifikaciji lipida (frenilacija) i usidrenju malih GTP-aza za staničnu membranu. Pravilno funkcioniranje GTP-aza je značajno za brojne stanične funkcije uključujući apoptozu te pravilnu izgradnju citoskeleta osteoklasta putem inhibicije formiranja aktina (71-76). Tako da bisfosfonati smanjuju osteopeniju i osteoporozu nakon transplantacije prvenstveno inhibicijom osteoklasta (7, 26). Bisfosfonati se u koštanom tkivu zadržavaju dugo (mjesecima do godinama), zbog čega je potrebno dugotrajno praćenje za procjenu učinka i mogućih nuspojava.

Intravenski primijenjeni bisfosfonati se nakon primjene raspodjeljuju između kosti (50% se brzo ugradi u kost) i izvanstanične tekućine. Ugrađeni u kost bisfosfonati postaju metabolički neaktivni sve dok se ne oslobode pod utjecajem aktivnosti osteoklasta. Zanimarive količine bisfosfonata se nalaze u drugim tkivima. Intravenski bisfosfonati se ne metaboliziraju nego se nepromijenjeni izlučuju putem glomerularne filtracije u bubregu, bez aktivnog tubularnog izlučivanja (70, 77).

U više studija je pokazan nefrotoksični učinak intravenski primijenjenih bisfosfonata (78-80). Dva najčešća oblika nefrotoksičnosti su toksična akutna tubularna nekroza (ATN) i kolapsirajuća fokalna segmentalna glomeruloskleroza (FSGS)(81). Kolapsirajuća FSGS je najteži histološki oblik FSGS-a, a posljedica je direktne ozljede podocita, uslijed čega stanice ulaze u novi stanični ciklus, izgube

stanične markere diferenciranosti te ispoljavaju nezreli fenotip (82). Prema nekoliko objavljenih studija čini se da je pamidronat prvenstveno povezan s nefrotoksičnošću usmjerenom na podocyte (79, 80, 83). Nasuprot pamidronatu nefrotoksičnost zolendronata je izgleda prvenstveno povezana s ozljedom epitela tubula tj. toksičnim oblikom ATN-a (84). Nefrotoksičnost predstavlja potencijalno ograničavajući faktor u primjeni intravenskih bisfosfonata, ali važno je napomenuti da prvenstveno ovisi o primijenjenoj dozi i trajanju same infuzijske primjene te razmaku između primijenjenih doza lijeka (85).

Drugo potencijalni ograničavajući faktor je utjecaj bisfosfonata na smanjenje koštane pregradnje te mogućnost izazivanja adinamične bolesti kosti (86).

### **1.11. Dosadašnje spoznaje**

Dosadašnja istraživanja kod bolesnika s osteoporozom ili bolesnika s kortikosteroidnom terapijom pokazala su dobar učinak na smanjenje gubitka koštane mase liječenjem s bisfosfonatima (87, 88). Nekoliko studija je pokazalo da bi primjena bisfosfonata u svrhu prevencije gubitka koštane mase kod bolesnika u ranom periodu nakon transplantacije bubrega mogla imati dobre učinke (26, 89-92). U dosadašnjim studijama koje su koristile pamidronat, kod bolesnika nakon transplantacije bubrega, istraživani su njegovi učinci na bolesnicima odabranim po spolu (90) ili početnoj bolesti kosti (osteopenija) (93), a u nekoliko studija bolesnici su uz pamidronat primali kalcij i/ili Vitamin D (89, 93-95). U prilog primjene bisfosfonata govori i dalji pozitivni učinak nakon prestanka s terapijom, što se očituje zadržanom mineralnom gustoćom kostiju (96).



S obzirom na visoku učestalost adinamične bolesti kostiju kod bolesnika s transplantiranim bubregom (8) i usporene koštane pregradnje pod utjecajem bisfosfonata, postoji opravdana zabrinutost radi moguće egzacerbacije adinamične bolesti kostiju (97). Tako je i u studiji Coca i sur. koji su primjenjivali pamidronat u inicijalnoj dozi od 60mg te potom još četiri doze u 1,2,3 i 6. mjesecu zabilježena visoka pojavnost adinamične kosti u odnosu na kontrolnu grupu, što je potvrđeno biopsijom kosti. Stoga su nedavno Torregrosa i sur. izvijestili o učinkovitosti primjene niskih doza pamidronata uz terapiju s kalcijem i kolekalciferolom (93). Važno je također primijetiti da su svi autori primjenjivali pamidronat ubrzo po transplantaciji, na primjer Fan i sur. preoperativno (90), a Nam i suradnici 2 tjedna nakon transplantacije (94). Nadalje, još uvijek nije jednoznačno utvrđeno imaju li bisfosfonati negativan učinak na funkciju transplantiranog bubrega.

Trenutno, dakle, ne postoji ujednačen stav o primjeni navedene terapije, pa tako niti o optimalnoj dozi, trenutku započinjanja s terapijom te trajanju terapije.

## **2. HIPOTEZA I CILJEVI**

### **2.1. Hipoteza**

Primjena niskih doza pamidronata smanjiti će gubitak koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije bubrega.

### **2.2. Ciljevi**

Opći cilj: Ispitati učinkovitost niskih doza pamidronata u prevenciji gubitka koštane mase u bolesnika u prvoj godini nakon transplantacije bubrega.

Specifični ciljevi:

1. Utvrditi utječe li odgođena primjena niskih doza pamidronata (u pravilu mjesec dana nakon transplantacije tj. nakon uspostave funkcije transplantiranog bubrega) na učinkovitost prevencije gubitka koštane mase.
2. Utvrditi učinkovitost niskih doza pamidronata bez primjene kalcija i vitamina D (osim kada je to medicinski indicirano uz odgovarajuće laboratorijske nalaze).
3. Procijeniti utjecaj primjene niskih doza pamidronata na funkciju transplantiranog bubrega.
4. Izraditi prijedlog sheme za primjenu pamidronata u liječenju bolesnika nakon transplantacije bubrega.

### **3. BOLESNICI I METODE**

#### **3.1. Ispitanici**

Ispitanici su bolesnici kojima je transplantiran bubreg u Klinici za urologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb tijekom svibnja 2005. godine do travnja 2006. godine, a odgovarali su ulaznim kriterijima za uključenje u studiju. Svi bolesnici su dobivali pamidronat i prospektivno su praćeni 12 mjeseci u sklopu projekta „Gubitak kosti nakon transplantacije bubrega“ odobrenog od Ministarstva znanosti Republike Hrvatske pod šifrom projekta 0108175, a kojeg vodi prof. Zvonimir Mareković.

#### **3.2. Kontrolna skupina**

Kontrolnu skupinu čine bolesnici kojima je transplantiran bubreg u Klinici za urologiju Kliničkog bolničkog centra Zagreb u razdoblju od ožujka 2001. godine do rujna 2002. godine. Bolesnici su po svemu identični ispitanicima iz prve skupine osim što nisu primali pamidronat.

#### **3.3. Protokol istraživanja**

Za vrijeme hospitalizacije bolesnika u Klinici za urologiju radi transplantacije bubrega u studiju su uključeni svi bolesnici koji su odgovarali ulaznim kriterijima i koji su potpisali informirani pristanak.

Uvjeti za ulazak u studiju:

1. Razina intaktnog paratiroidnog hormona veća od 6 pmol/L.
2. Funkcija transplantiranog bubrega prije prve doze bisfosfonata zadovoljavajuća tj. kreatinin <200 µmol/L.

3. Dob 19-60 godina, bez obzira na status gustoće koštane mase.
4. Potpisan informirani pristanak.

Uvjeti za neprihvatanje u studiju:

1. Reakcija akutnog odbacivanja bubrega liječena visokim dozama steroida u prvom mjesecu nakon transplantacije bubrega.
2. Klirens kreatinina manji od 50ml/min/1,73m<sup>2</sup> mjesec dana od transplantacije.
3. Proteinurija veća od 1,0 grama u 24h urinu mjesec dana nakon transplantacije.

Prvu dozu pamidronata od 0,5mg/kg intravenski kroz 3 sata ispitanici su primili oko mjesec dana nakon transplantacije tj. nakon uspostave funkcije grafta koja je određena kao klirens kreatinina >50 ml/min/1.73m<sup>2</sup>.

Drugu dozu pamidronata od 0,5mg/kg intravenski kroz 3 sata ispitanici su primili mjesec dana nakon prve doze.

Svim ispitanicima u obje skupine su određivani laboratorijski parametri (u serumu: iPTH, kalcij, anorganski fosfat, ukupna alkalna fosfataza, kreatinin, a u 24 satnom urinu: kalcij, kreatinin, ukupni proteini i klirens kreatinina) za vrijeme hospitalizacije radi transplantacije bubrega te ambulantno u 3., 6. i 12. mjesecu od prve doze lijeka.

Imunosupresija kod svih bolesnika uključenih u studiju je uključivala standardni protokol za bolesnike kojima je transplantiran bubreg, a sastoji se od tri lijeka (prednisone, ciklosporin i mikofenolat mofetil (MMF)).

Manji broj ispitanika je tijekom ispitivanog razdoblja ovisno o odluci nadležnog nefrologa primao nadomjesnu terapiju kalcijem i/ili vitaminom D u skladu s uobičajenim kliničkim protokolom.

Kontrolna skupina ispitanika tretirana je glede vitamina D i kalcija na isti način kao i skupina ispitanika, ali bez primjene bisfosfonata.

U tri navrata određena je gustoća kosti pomoću DXA denzitometrije (dual X-ray absorptiometry) na lokacijama lumbalna kralježnica (L1-L4), femur (vrat femura, trohanter i Wardov trokut) i distalna trećina radijusa. Mineralna gustoća kosti je određena u tijeku prvih 30 dana od transplantacije, a druge dvije 6 i 12 mjeseci od prve doze lijeka.

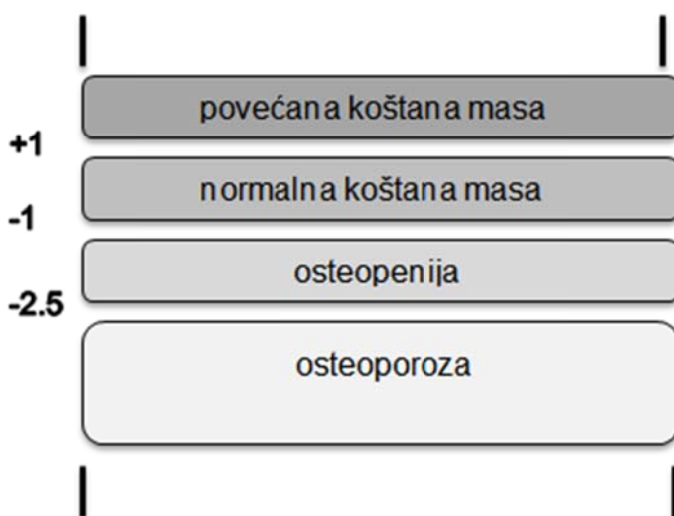
### **3.4. Određivanje gustoće koštane mase**

Gustoća koštane mase određivana je kod svih ispitanika u svim mjerenjima na istom uređaju za denzitometriju (Hologic QDR 4500W) metodom dvoenergetske rendgenske apsorpcimetrije (DXA – engl. Dual energy X-ray Absorptiometry). DXA denzitometrija je metoda koja koristi dvije rendgenske zrake različitih frekvencija, malih energija koje prolaze kroz kost. Jedan energetski snop se uglavnom apsorbira u koštanom tkivu, a drugi u mekom tkivu. Iza kosti na senzoru se bilježe X zrake koje su prošle kroz kost, a rezultat se obrađuje pomoću računala. Na osnovu razlike energije između propuštenih X zraka procjenjuje se mineralna gustoća kosti koja se izražava kao BMD u vrijednosti  $\text{g/cm}^2$ .

Denzitometrija je učinjena na tri lokacije: lumbalna kralježnica (L1-L4), bedrena kost (trohanter, vrat bedrene kosti i Wardov trokut) i distalna trećina radijusa. Za sve lokacije vrijednosti je izražena kao mineralna gustoća kosti (BMD – engl.

Bone Mineral Density) ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), kao standardna devijacija gustoće kosti od zdrave mlade populacije u dobi od 30 godina, istog spola (T vrijednost) i kao standardna devijacija gustoće kosti u odnosu na populaciju iste dobi i spola (Z vrijednost).

Na temelju preporuka Svjetske zdravstvene organizacije (1994.) kvantifikacija koštane mase omogućuje procjenu osteoporoze za žene u postmenopauzi. Isti kriteriji se koriste za odrasle muškarce i primjenjuje kod sumnje na osteoporozu i osteopeniju u drugim stanjima i poremećajima koštanog metabolizma. Vrijednosti T između -1 i -2,5 smatra se kao osteopenija, a vrijednosti manje od -2,5 smatraju se kao osteoporoza (Slika 7). Obje vrijednosti, i T i Z, izračunate su u odnosu na referentne vrijednosti dostavljene od proizvođača uređaja.



Slika 7. Tumačenje T vrijednosti

### 3.5. Laboratorij

Iz seruma dobivenog vađenjem krvi bolesnika određivani su laboratorijski parametri (referentne vrijednosti): iPTH ( $1\text{-}6\text{pmol/L}$ ), kalcij ( $2,14\text{-}2,53\text{ mmol/L}$ ),

anorganski fosfat (0,84-1,45 mmol/L), ukupna alkalna fosfataza (<90 IU/L), kreatinin (64-124  $\mu$ mol/L).

Iz 24 satnog urina mjereni su kalcij, kreatinin, ukupni proteini te je još mjereno i klirens kreatinina.

### **3.6. Statističke metode**

Analiza dobivenih rezultata realizirana je pomoću tehnika i metoda primijenjene statistike. Distribucija dobivenih vrijednosti numeričkih varijabli verificirana je Shapiro-Wilk-ovim testom normalnosti. Ovaj test je odabran s obzirom na veličinu ispitivanog uzorka, a normalnost distribucije varijable je smatrana ako je  $p > 0.05$ . Za usporedbu između dvije skupine korišten je Studentov t-test za neovisne uzorke. U slučajevima raspodjele podataka koje su odstupale od normalne korišten je neparametrijski Mann-Whitney U test, a za usporedbu ponavljanih mjerenja unutar skupine korišten je Friedman-ov test. U svrhu usporedbe rezultata mjerenja unutar skupine korišten je Student-ov t-test za ovisne uzorke, U slučaju tri ili više skupina, konkretno za usporedbu ponovljenih mjerenja denzitometrije korišten je primjereni ANOVA test za ponovljena mjerenja uz posthoc Bonferroni-jevu korekciju. Kategorijski podaci su analizirani pomoću Chi-kvadrat testa. Razlike dobivenih vrijednosti između skupina analizirane su na razini značajnosti od 5% ( $p < 0.05$ ). Za analizu podataka korištena je programska podrška SPSS ver. 19.

### **3.7.      Odobrenje etičkog povjerenstva**

Istraživanje na ispitanicima i pacijentima učinjeno je u skladu sa svim važećim i primjenljivim smjernicama čiji je cilj osigurati pravilno provođenje postupaka i sigurnost osoba koje sudjeluju u znanstvenom istraživanju, uključujući Osnove dobre kliničke prakse, Helsinšku deklaraciju, Zakon o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 121/03) i Zakon o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04). Identitet ispitanika i pacijenata je povjerljiv i zaštićen.

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Kliničkog bolničkog centra Zagreb, kao i Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.



## 4. REZULTATI

U ovo istraživanje uključeno je 36 bolesnika kod kojih je učinjena transplantacija bubrega. U ispitivanu skupinu u početku je bilo uključeno 19 bolesnika od kojih je dvoje isključeno iz istraživanja jer nije učinjena denzitometrija na dvanaest mjeseci. U kontrolnu skupinu u početku je bilo uključeno 17 bolesnika. Za vrijeme istraživanja tri bolesnika su isključena iz studije, jedan jer je radi sumnje na akutno odbacivanje bubrega primao boluse kortikosteroida, a dva bolesnika su treću denzitometriju učinili neprimjereno kasno, odnosno 18 mjeseci nakon transplantacije.

U obradi rezultata korišteni su podaci za 17 ispitanika ispitivane skupine i 14 ispitanika kontrolne skupine. Za sve ispitanike su bili dostupni podaci denzitometrije učinjeni unutar tri tjedna od transplantacije, te 6 i 12 mjeseci od transplantacije. Svima su rađeni laboratorijski nalazi za vrijeme hospitalizacije, koji su korišteni kao početne vrijednosti laboratorijskih nalaza, zatim je korištena laboratorijska analiza na 3, 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije bubrega.

Imunosupresija kod svih ispitanika je uključivala standardni protokol s tri lijeka: prednisone, ciklosporin i mikofenolat mofetil (MMF). Početna doza prednisona je bila 60mg, s kasnijim smanjenjem doze. Svi bolesnici su pri otpustu imali dozu od 20mg. Medijan tri mjeseca nakon transplantacije je bio 15mg (raspon=10-20mg), nakon šest mjeseci 10mg (raspon=5-15mg), a dvanaest mjeseci nakon transplantacije 7.5mg (raspon=5-10mg).

Svi ispitanici ispitivane skupine primili su dozu lijeka Aredia (pamidronate) od 0,5mg/kg u dva navrata i to kako je planirano protokolom istraživanja. Do kraja istraživanja svi ispitanici su imali funkcionirajući graft.

#### **4.1. Statistički parametri biokemijskih varijabli ispitivane skupine**

Kako je ranije navedeno ispitivanu skupinu čini 17 ispitanika. Od toga je 11 ispitanika muškog spola, a 6 ispitanika ženskog spola. U Tablici 4 prikazani su rezultati deskriptivne statistike koja uključuje, za svaku varijablu, najveću i najmanju vrijednost, srednju vrijednost i standardnu devijaciju. Ostali rezultati deskriptivne analize nisu navedeni s obzirom da nisu utjecali na konačne rezultate statističke analize. Rezultati su prikazani za životnu dob, tjelesnu visinu, tjelesnu težinu, indeks tjelesne mase u vrijeme transplantacije te za biokemijske parametre mjerene tijekom istraživanja u četiri navrata.

*Tablica 4. Osnovni numerički statistički pokazatelji za ispitivanu skupinu za varijable životne dobi, tjelesna visine, tjelesne težine i indeksa tjelesne mase na početku istraživanja i rezultata mjerenih biokemijskih parametara u četiri navrata.*

<b>Ispitivana skupina prvo mjerenje</b>				
<b>Varijabla</b>	<b>Najmanja vrijednost</b>	<b>Najveća vrijednost</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>
Dob (godina)	22	67	47.2	13.22
Tjelesna visina	155	182	169.5	7.51
Tjelesna težina	49	103	68.7	13.99
ITM (kg/cm <sup>2</sup> )	18.22	31.10	23.70	3.18
PTH	8.6	66.8	24.5	17.45
Ca	2.0	3.2	2.4	0.27
P	0.4	1.4	0.9	0.29
ALP	29.0	166.0	63.1	35.50
Kreatinin	88.0	205.0	142.9	41.68
24h kreatinin u urinu	5.6	20.4	11.6	3.89
Proteini u urinu	0.1	3.2	0.7	0.81
Klirens kreatinina	29.0	98.0	57.8	22.82
<b>Ispitivana skupina drugo mjerenje (3 mjeseca od transplantacije)</b>				
PTH	0.2	32.0	11.4	8.89
Ca	2.1	3.0	2.6	0.22
P	0.7	1.6	1.0	0.28
ALP	28.0	111.0	54.1	24.59
Kreatinin	81.0	182.0	127.4	30.74
24h kreatinin u urinu	5.7	23.2	14.0	5.66
Proteini u urinu	0.0	2.4	0.5	0.58
Klirens kreatinina	38.0	121.0	72.2	27.00
<b>Ispitivana skupina treće mjerenje (6 mjeseci od transplantacije)</b>				
PTH	1.2	31.1	10.5	8.16
Ca	2.1	3.0	2.6	0.25
P	0.6	1.3	0.9	0.19
ALP	33.0	115.0	60.1	24.24
Kreatinin	79.0	202.0	132.1	32.61
24h kreatinin u urinu	6.1	24.7	14.7	5.68
Proteini u urinu	0.0	3.6	0.5	0.83
Klirens kreatinina	36.0	121.0	73.6	24.14
<b>Ispitivana skupina četvrto mjerenje (12 mjeseci od transplantacije)</b>				
PTH	1.4	150.0	21.6	36.90
Ca	2.1	2.9	2.5	0.24
P	0.5	1.4	1.0	0.26
ALP	31.0	201.0	70.1	40.90
Kreatinin	81.0	306.0	144.4	54.80
24h kreatinin u urinu	5.4	24.5	13.3	5.32
Proteini u urinu	0.0	2.6	0.4	0.64
Klirens kreatinina	24.0	118.0	67.5	29.89

## **4.2. Statistički parametri biokemijskih varijabli kontrolne skupine**

Kako je navedeno kontrolnu skupinu čini 14 ispitanika. Od toga je 6 ispitanika muškog spola, a 8 ispitanika ženskog spola. Kao i u slučaju ispitivane skupine u Tablici 5 su navedeni osnovni statistički pokazatelji koji uključuju za svaku varijablu najveću i najmanju vrijednost, srednju vrijednost i standardnu devijaciju. Rezultati su prikazani za životnu dob, tjelesnu visinu, tjelesnu težinu, indeks tjelesne mase u vrijeme transplantacije te za biokemijske parametre mjerene tijekom istraživanja isto u četiri navrata.

*Tablica 5. Osnovni numerički statistički pokazatelji za kontrolnu skupinu za varijable životne dobi, tjelesna visine, tjelesne težine i indeksa tjelesne mase na početku istraživanja i rezultata mjerenih biokemijskih parametara u četiri navrata.*

<b>Kontrolna skupina prvo mjerenje</b>				
<b>Varijabla</b>	<b>Najmanja vrijednost</b>	<b>Najveća vrijednost</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>
Dob (godina)	35	58	48.0	7.51
Tjelesna visina	153	184	165.5	8.77
Tjelesna težina	52	83	65.6	10.94
ITM (kg/cm <sup>2</sup> )	18.42	28.03	23.88	2.97
PTH	6.5	150.0	32.9	41.94
Ca	1.3	2.8	2.2	0.44
P	0.5	1.2	0.9	0.21
ALP	31.0	135.0	76.8	31.00
Kreatinin	83.0	227.0	139.3	48.66
24h kreatinin u urinu	7.8	18.1	11.6	2.86
Proteini u urinu	0.0	0.9	0.4	0.29
Klirens kreatinina	43.0	101.0	62.6	19.40
<b>Kontrolna skupina drugo mjerenje (3 mjeseca od transplantacije)</b>				
PTH	3.1	46.1	14.0	14.67
Ca	2.3	3.0	2.6	0.20
P	0.5	1.4	0.9	0.23
ALP	60.0	413.0	152.8	100.50
Kreatinin	84.0	178.0	122.3	32.06
24h kreatinin u urinu	7.7	25.0	13.1	4.52
Proteini u urinu	0.0	0.4	0.2	0.14
Klirens kreatinina	54.0	92.0	72.0	13.44
<b>Kontrolna skupina treće mjerenje (6 mjeseci od transplantacije)</b>				
PTH	2.3	36.7	7.5	10.37
Ca	2.0	3.2	2.6	0.26
P	0.6	1.3	0.9	0.21
ALP	1.5	467.0	146.7	117.18
Kreatinin	86.0	181.0	117.2	28.94
24h kreatinin u urinu	6.8	19.0	12.6	4.02
Proteini u urinu	0.0	0.6	0.2	0.21
Klirens kreatinina	49.0	105.0	71.5	15.89
<b>Kontrolna skupina četvrto mjerenje (12 mjeseci od transplantacije)</b>				
PTH	2.0	20.9	6.3	5.06
Ca	2.3	3.2	2.6	0.23
P	0.7	1.3	1.0	0.18
ALP	51.0	205.0	120.5	47.59
Kreatinin	74.0	228.0	120.3	47.57
24h kreatinin u urinu	6.7	29.7	13.1	6.19
Proteini u urinu	0.0	0.4	0.1	0.11
Klirens kreatinina	35.0	108.0	70.7	19.81

### 4.3. Statistička analiza laboratorijskih varijabli između skupina

Analiza distribucije rezultata laboratorijskih nalaza po Shapiro Wilk-ovom testu je pokazala da gotovo uvijek barem jedna promatrana varijabla unutar ponovljenih mjerenja nije normalno distribuirana, te su u daljnjoj analizi korišteni neparametrijski testovi. Analiza je realizirana po Mann Whitney U testu između skupina za početno mjerenje. Iz analize je vidljivo da se grupe međusobno ne razlikuju po početnim promatranim parametrima (Tablica 6).

*Tablica 6. Analiza razlike laboratorijskih varijabli između ispitivane i kontrolne skupine u vrijeme transplantacije.*

<b>Varijabla</b>	<b>Mann-Whitney U test</b>	<b>p vrijednost</b>
<b>PTH</b>	92	0.658
<b>Ca</b>	78	0.288
<b>PTH</b>	100	0.929
<b>ALP</b>	71	0.170
<b>Kreatinin</b>	96.5	0.807
<b>24h kreatinin u urinu</b>	100	0.929
<b>Proteini u urinu</b>	75.5	0.241
<b>Klirens kreatinina</b>	84.5	0.438

Za potvrdu nepostojanja razlike između ispitivane i kontrolne skupine u početnim parametrima tjelesne visine, težine, indeksa tjelesne mase, dobi te po spolu korišten je Student t-test za neovisne uzorke odnosno u slučaju spola Chi-kvadrat test. Rezultati nisu pokazali da postoji statistički značajna razlika. Rezultati usporedbe prikazani su u Tablica 7.

*Tablica 7. Analiza razlike promatranih demografskih varijabli između ispitivane i kontrolne skupine u vrijeme transplantacije.*

<b>Varijabla</b>	<b>t vrijednost</b>	<b>p vrijednost</b>
<b>TV</b>	-1.379	0.179
<b>TT</b>	-0.683	0.500
<b>ITM</b>	0.157	0.876
<b>Dob</b>	0.189	0.852
<b>Spol</b>	1.480	0.224

Nadalje, realizirana je statistička analiza za svako pojedino mjerenje između skupina, a u tu svrhu korišten je Mann Whitney-ev test. Za svaku pojedinu laboratorijsku varijablu korišten je Friedman-ov test za sva četiri mjerenja uz posthoc analizu.

Analiza je pokazala da postoji statistički značajna razlika između skupina za alkalnu fosfatazu i to za drugo, treće i četvrto mjerenje s jasno vidljivim višim vrijednostima alkalne fosfataze u kontrolnoj skupini (Tablica 8). U ostalim promatranim laboratorijskim varijablama nije uočena razlika između ove dvije skupine.

*Tablica 8. Statistička analiza razlike između skupina za alkalnu fosfatazu.*

<b>Mjerenje</b>	<b>Mann Whitney U</b>	<b>p vrijednost</b>
<b>ALP prvo mjerenje</b>	71.00	0.170
<b>ALP drugo mjerenje</b>	17.00	0.000
<b>ALP treće mjerenje</b>	33.50	0.001
<b>ALP četvrto mjerenje</b>	35.50	0.002

Učinjena je, također analiza po Friedman-ovom testu uz kasniju posthoc analizu za ponavljana mjerenja svih laboratorijskih varijabli. Analiza je pokazala za PTH postojanje razlike u ispitivanoj skupini i to između prvog mjerenja naprama drugom, trećem i četvrtom mjerenju, u kontrolnoj skupini nije bilo statistički značajnih razlika. Za kalcij (Ca) postoji razlika u kontrolnoj skupini i to između prvog mjerenja

naprama drugom, trećem i četvrtom mjerenju. Za fosfor (P) nije bilo razlika niti u jednoj skupini. Za alkalnu fosfatazu (ALP) statistički značajna razlika je uočena u ispitivanoj skupini i to između četvrtog mjerenja naprama prvom i drugom mjerenju, a u kontrolnoj skupini između prvog mjerenja naprama drugom i trećem mjerenju. Vrijednost kreatinina je pokazala statistički značajnu razliku u ispitivanoj skupini između prvog naprama drugo mjerenje, između drugog naprama četvrto mjerenje, a u kontrolnoj skupini između četvrtog naprama prvo, drugo i treće mjerenje. Za kreatinin u 24 satnom urinu nije bilo razlike u promatranom periodu. Za proteine u urinu postoji statistički značajna razlika u obje skupine između prvog mjerenja naprama drugo, treće i četvrto mjerenje. Za klirens kreatinina u promatranom razdoblju nije bilo statistički značajne razlike. Dio sumarnih rezultata je prikazan u Tablici 9.

Važno je naglasiti da je u cjelokupnom promatranom periodu prosječna vrijednost kreatinina iznosila manje od 150  $\mu\text{mol/L}$  uz nepostojanje razlike po Mann Whitney-evom testu između skupina u promatranom periodu (Slika 8 i Slika 9).



Tablica 9. Rezultati statističke analize laboratorijskih nalaza između i unutar skupina.

Biokemijski parametri	Ispitivana skupina				Kontrolna skupina			
	1 mjesec	3 mjesec	6 mjesec	12 mjesec	1 mjesec	3 mjesec	6 mjesec	12 mjesec
<b>PTH<sup>c</sup></b>	24.54±17.45	<b>11.43±8.89<sup>e</sup></b>	<b>10.49±8.16<sup>e</sup></b>	<b>21.59±36.90<sup>e</sup></b>	32.88±41.94	13.99±14.67	7.52±10.37	6.33±5.06
<b>Ca<sup>d</sup></b>	2.41±0.27	2.59±0.22	2.55±0.25	2.53±0.24	2.22±0.44	<b>2.56±0.20<sup>e</sup></b>	<b>2.58±0.26<sup>e</sup></b>	<b>2.59±0.23<sup>e</sup></b>
P	0.90±0.29	1.03±0.28	0.92±0.19	1.04±0.26	0.88±0.21	0.87±0.23	0.93±0.21	1.03±0.18
<b>ALP<sup>b</sup></b>	63.12±35.5	<b>54.06±24.59<sup>a</sup></b>	<b>60.06±24.24<sup>a</sup></b>	<b>70.12±40.90<sup>a,e</sup></b>	<b>76.75±31.00<sup>a</sup></b>	<b>152.85±100.50<sup>a,e</sup></b>	<b>146.73±117.18<sup>a,e</sup></b>	<b>120.46±47.59<sup>a</sup></b>
<b>Kreatinin<sup>b</sup></b>	142.94±41.68	<b>127.35±30.74<sup>e</sup></b>	132.06±32.61	144.35±54.80	139.25±48.66	122.31±32.06	117.23±28.94	<b>120.31±47.57<sup>e</sup></b>
24h kreatinin	11.62±3.89	13.97±5.66	14.7±5.68	13.35±5.32	11.63±2.86	13.11±4.52	12.64±4.02	13.08±6.19
<b>Proteini u urinu<sup>b</sup></b>	0.72±0.81	<b>0.46±0.58<sup>e</sup></b>	<b>0.46±0.83<sup>e</sup></b>	<b>0.40±0.64<sup>e</sup></b>	0.36±0.29	<b>0.15±0.14<sup>e</sup></b>	<b>0.18±0.21<sup>e</sup></b>	<b>0.14±0.11<sup>e</sup></b>
Klirens kreatinina	57.82±22.82	72.24±27.00	73.59±24.14	67.48±29.89	62.58±19.40	72.00±13.44	71.54±15.89	70.69±19.81

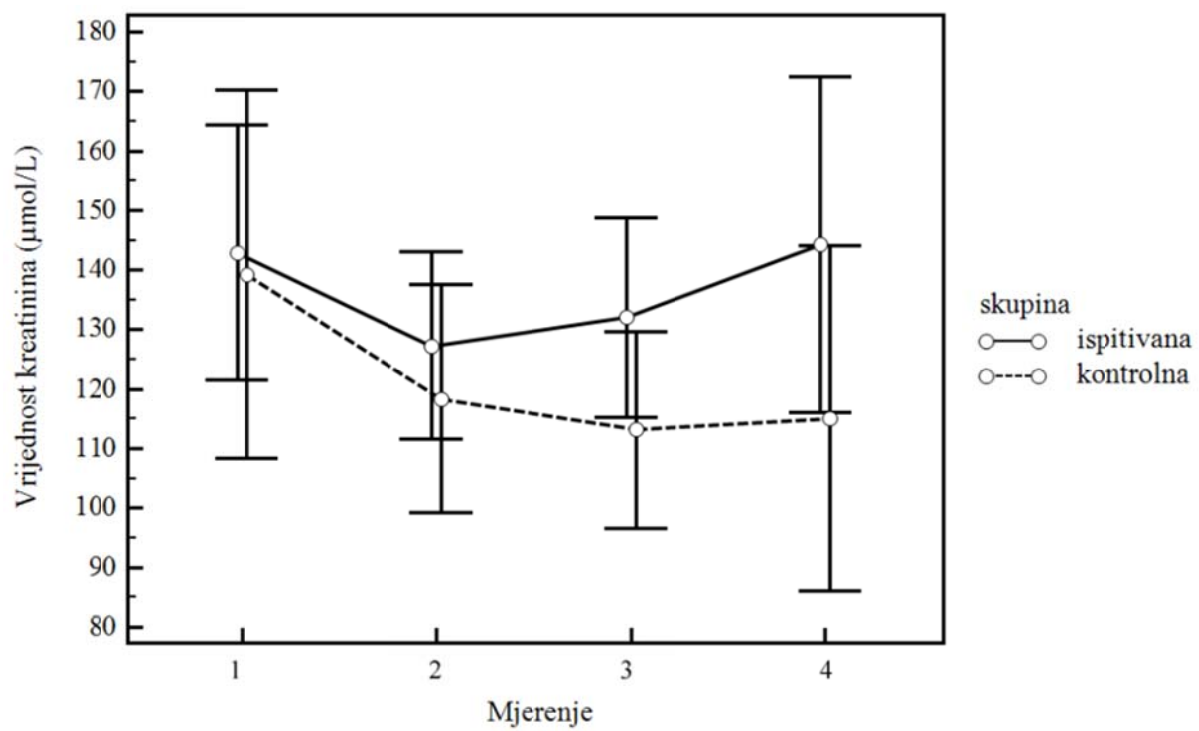
\*a Statistički značajna razlika između grupa (Mann Whitney U test)

\*b Statistički značajna razlika unutar ispitivane i kontrolne skupine (Friedman test)

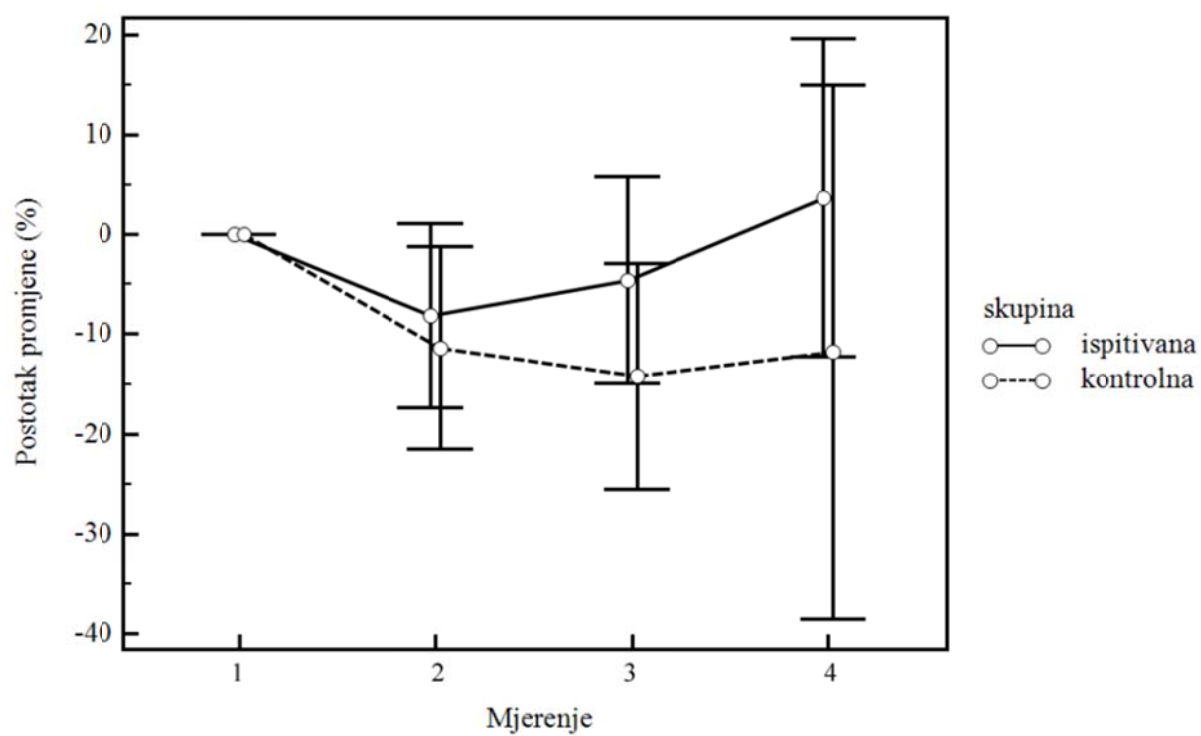
\*c Statistički značajna razlika unutar ispitivane skupine (Friedman test)

\*d Statistički značajna razlika unutar kontrolne skupine (Friedman test)

\*e Statistički značajna razlika unutar skupine u usporedbi s prvim mjerenjem (posthoc analiza)



Slika 8. Grafički prikaz kretanja vrijednosti kreatinina u ispitivanoj i kontrolnoj skupini.



Slika 9. Grafički prikaz s 95% CI kretanja postotka promjene vrijednosti kreatinina u ispitivanoj i kontrolnoj skupini.

#### **4.4. Analiza denzitometrije ispitivane skupine**

Osnovni statistički parametri za varijable denzitometrije mjerene u tri navrata, unutar prva tri tjedna te u 6. i 12. mjesecu nakon transplantacije bubrega. Prikazani su rezultati za sljedeće varijable: slabinska kralježnica, vrat, trohanter i Wardov trokut bedrene kosti te prva trećina distalne trećine radijusa. Rezultati su prikazani najmanjom, najvećom i srednjom vrijednošću te standardnom devijacijom (Tablica 10).

Tablica 10. Osnovni pokazatelji za denzitometriju ispitivane skupine.

<i>Ispitivana skupina prvo mjerenje</i>				
<b>Varijabla</b>	<b>Najmanja vrijednost</b>	<b>Najveća vrijednost</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>
Lumbalna kralježnica BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.769	1.386	1.011	0.157
Lumbalna kralježnica T vrijednost	-2.93	2.68	-0.59	1.46
Lumbalna kralježnica Z vrijednost	-2.30	3.12	-0.17	1.37
Vrat lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.603	1.214	0.817	0.192
Vrat lijeve bedrene kosti T vrijednost	-3.41	2.14	-1.22	1.65
Vrat lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-1.95	3.10	-0.25	1.53
Trohanter lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.543	1.009	0.726	0.157
Trohanter lijeve bedrene kosti T vrijednost	-2.27	1.92	-0.44	1.38
Trohanter lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-1.65	2.47	0.00	1.32
Wardov trokut lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.369	1.206	0.703	0.243
Wardov trokut lijeve bedrene kosti T vrijednost	-3.86	3.11	-0.98	2.03
Wardov trokut lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-1.86	4.42	0.44	1.71
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.507	0.832	0.679	0.100
33% distalnog radijusa T vrijednost	-5.21	0.28	-1.71	1.49
33% distalnog radijusa Z vrijednost	-4.47	0.59	-1.15	1.45
<i>Ispitivana skupina drugo mjerenje (6 mjeseci od transplantacije)</i>				
Lumbalna kralježnica BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.756	1.259	1.000	0.140
Lumbalna kralježnica T vrijednost	-3.05	1.53	-0.67	1.31
Lumbalna kralježnica Z vrijednost	-2.31	1.98	-0.21	1.27
Vrat lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.619	1.065	0.810	0.161
Vrat lijeve bedrene kosti T vrijednost	-3.27	0.78	-1.33	1.39
Vrat lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-2.02	1.60	-0.31	1.26
Trohanter lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.524	1.039	0.709	0.151
Trohanter lijeve bedrene kosti T vrijednost	-2.48	2.20	-0.62	1.37
Trohanter lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-1.81	2.75	-0.16	1.32
Wardov trokut lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.416	1.160	0.699	0.213
Wardov trokut lijeve bedrene kosti T vrijednost	-3.47	2.73	-1.04	1.78
Wardov trokut lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-1.44	3.67	0.44	1.45
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.499	0.810	0.668	0.098
33% distalnog radijusa T vrijednost	-4.95	-0.14	-1.92	1.46
33% distalnog radijusa Z vrijednost	-4.19	0.76	-1.34	1.46
<i>Ispitivana skupina treće mjerenje (12 mjeseci od transplantacije)</i>				
Lumbalna kralježnica BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.754	1.257	0.988	0.149
Lumbalna kralježnica T vrijednost	-3.06	1.51	-0.80	1.40
Lumbalna kralježnica Z vrijednost	-2.64	1.97	-0.33	1.38
Vrat lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.577	1.020	0.782	0.154
Vrat lijeve bedrene kosti T vrijednost	-3.65	0.37	-1.48	1.33
Vrat lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-2.44	1.31	-0.51	1.25
Trohanter lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.549	0.975	0.695	0.143
Trohanter lijeve bedrene kosti T vrijednost	-2.25	1.62	-0.70	1.31
Trohanter lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-1.92	2.18	-0.25	1.28
Wardov trokut lijeve bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.408	1.161	0.684	0.218
Wardov trokut lijeve bedrene kosti T vrijednost	-3.54	2.74	-1.15	1.81
Wardov trokut lijeve bedrene kosti Z vrijednost	-2.34	3.50	0.29	1.56
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.490	0.817	0.668	0.095
33% distalnog radijusa T vrijednost	-5.17	0.00	-1.90	1.46
33% distalnog radijusa Z vrijednost	-4.38	0.54	-1.30	1.40

#### **4.5.      Analiza denzitometrije kontrolne skupine**

Osnovni statistički pokazatelji za varijable denzitometrije mjerene u tri navrata, unutar prva tri tjedna te u 6. i 12. mjesecu nakon transplantacije bubrega. Prikazani su rezultati za sljedeće varijable: lumbalna kralježnica, vrat, trohanter i Wardov trokut bedrene kosti te prva trećina distalne trećine radijusa. Rezultati su prikazani najmanjom, najvećom i srednjom vrijednošću te standardnom devijacijom (Tablica 11).

Tablica 11. Osnovni pokazatelji za denzitometriju kontrolne skupine mjerene.

<b>Kontrolna skupina prvo mjerenje</b>				
<b>Varijabla</b>	<b>Najmanja vrijednost</b>	<b>Najveća vrijednost</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>
Lumbalna kralježnica BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.689	1.325	0.978	0.207
Lumbalna kralježnica T vrijednost	-3.25	2.43	-0.77	1.88
Lumbalna kralježnica Z vrijednost	-2.38	2.66	-0.26	1.81
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.559	0.923	0.734	0.107
Vrat bedrene kosti T vrijednost	-3.35	0.28	-1.84	1.02
Vrat bedrene kosti Z vrijednost	-2.18	0.75	-0.90	0.97
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.337	0.804	0.622	0.129
Trohanter bedrene kosti T vrijednost	-4.28	0.91	-1.32	1.35
Trohanter bedrene kosti Z vrijednost	-3.61	0.99	-0.87	1.26
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.375	0.838	0.605	0.124
Wardov trokut bedrene kosti T vrijednost	-3.83	0.39	-1.80	1.11
Wardov trokut bedrene kosti Z vrijednost	-1.92	1.19	-0.31	0.88
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.407	0.810	0.629	0.097
33% distalnog radijusa T vrijednost	-4.78	1.94	-1.95	1.79
33% distalnog radijusa Z vrijednost	-4.19	2.34	-1.36	1.80
<b>Kontrolna skupina drugo mjerenje (6 mjeseci od transplantacije)</b>				
Lumbalna kralježnica BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.642	1.270	0.916	0.210
Lumbalna kralježnica T vrijednost	-3.68	1.71	-1.33	1.92
Lumbalna kralježnica Z vrijednost	-3.13	2.59	-0.79	1.88
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.514	0.890	0.705	0.114
Vrat bedrene kosti T vrijednost	-3.81	-0.04	-2.13	1.08
Vrat bedrene kosti Z vrijednost	-2.66	1.05	-1.16	1.04
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.259	0.760	0.585	0.141
Trohanter bedrene kosti T vrijednost	-5.15	0.42	-1.70	1.48
Trohanter bedrene kosti Z vrijednost	-4.44	0.59	-1.24	1.37
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.334	0.689	0.555	0.108
Wardov trokut bedrene kosti T vrijednost	-4.20	-1.10	-2.24	0.95
Wardov trokut bedrene kosti Z vrijednost	-2.25	0.57	-0.72	0.83
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.403	0.836	0.619	0.104
33% distalnog radijusa T vrijednost	-5.24	2.37	-2.14	2.12
33% distalnog radijusa Z vrijednost	-4.85	2.76	-1.54	2.15
<b>Kontrolna skupina treće mjerenje (12 mjeseci od transplantacije)</b>				
Lumbalna kralježnica BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.695	1.279	0.919	0.191
Lumbalna kralježnica T vrijednost	-3.31	2.11	-1.26	1.72
Lumbalna kralježnica Z vrijednost	-3.02	2.39	-0.70	1.61
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.569	0.960	0.706	0.114
Vrat bedrene kosti T vrijednost	-3.25	0.66	-2.11	1.10
Vrat bedrene kosti Z vrijednost	-2.30	1.18	-1.11	1.02
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.359	0.767	0.601	0.120
Trohanter bedrene kosti T vrijednost	-4.04	0.50	-1.53	1.27
Trohanter bedrene kosti Z vrijednost	-3.31	0.60	-1.05	1.14
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.360	0.803	0.552	0.130
Wardov trokut bedrene kosti T vrijednost	-3.96	0.07	-2.26	1.17
Wardov trokut bedrene kosti Z vrijednost	-1.98	0.88	-0.69	0.96
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	0.393	0.814	0.610	0.095
33% distalnog radijusa T vrijednost	-5.02	1.99	-2.18	1.88
33% distalnog radijusa Z vrijednost	-4.25	2.40	-1.67	2.01

#### 4.6. Promjena gustoće koštane mase

U tablicama (Tablica 12 i Tablica 13) je prikazana promjena gustoće koštane mase mjerena kao postotak promjene BMD-a između drugog i prvog mjerenja denzitometrije odnosno između trećeg i prvog mjerenja denzitometrije. Iz ovih zbirnih podataka vidljiv je veći gubitak kosti u kontrolnoj skupini i to najviše u području lumbalne kralježnice i Wardovog trokuta na bedrenoj kosti. Osobito je izražena mala promjene gustoće koštane mase na lumbalnoj kralježnici u ispitivanoj skupini.

Tablica 12. Promjena gustoće koštane mase ispitivane skupine.

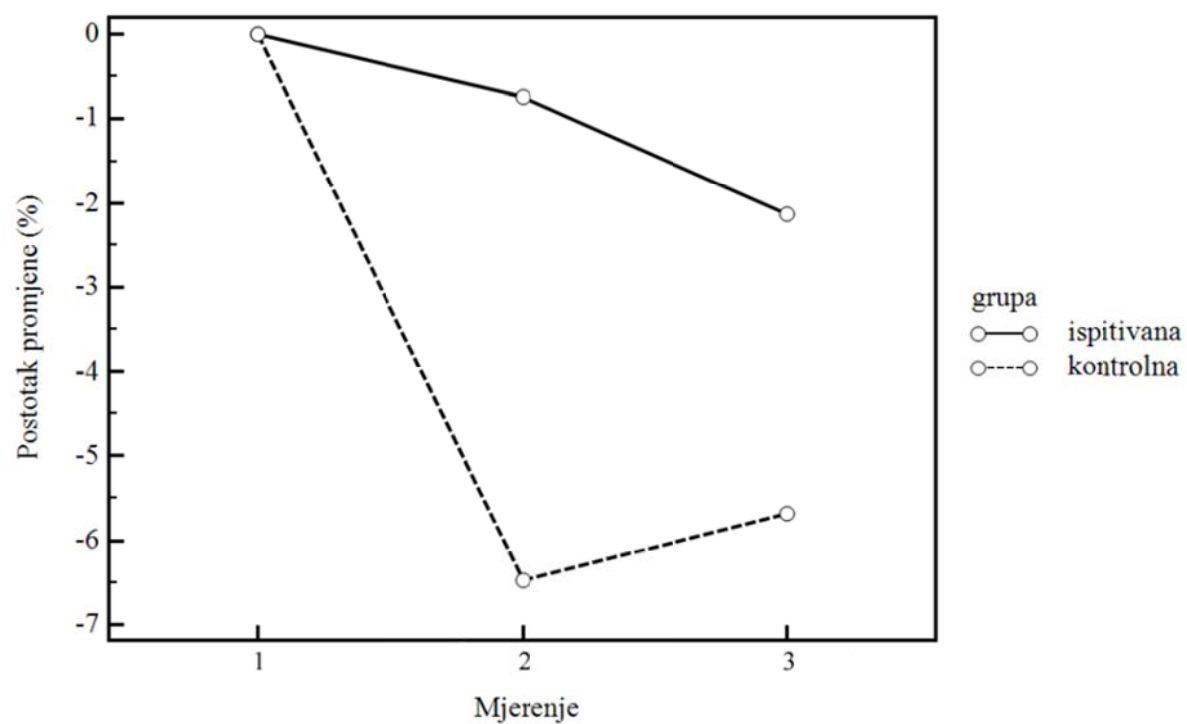
<b><i>Ispitivana skupina razlika BMD-a između drugog i prvog mjerenje</i></b>				
<b>Varijabla</b>	<b>Najmanja vrijednost</b>	<b>Najveća vrijednost</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>
Slabinska kralježnica	-9.2	7.0	-0.7	4.82
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-14.8	8.9	0.0	6.87
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-18.2	10.6	-2.1	7.50
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-27.9	13.0	1.5	11.93
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-8.2	2.6	-1.6	3.41
<b><i>Ispitivana skupina razlika BMD-a između trećeg i prvog mjerenje</i></b>				
Slabinska kralježnica	-13.1	5.6	-2.1	5.06
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-24.6	6.6	-3.2	8.15
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-24.9	13.0	-3.6	9.05
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-29.4	16.4	-1.1	12.08
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-8.3	4.7	-1.5	3.67



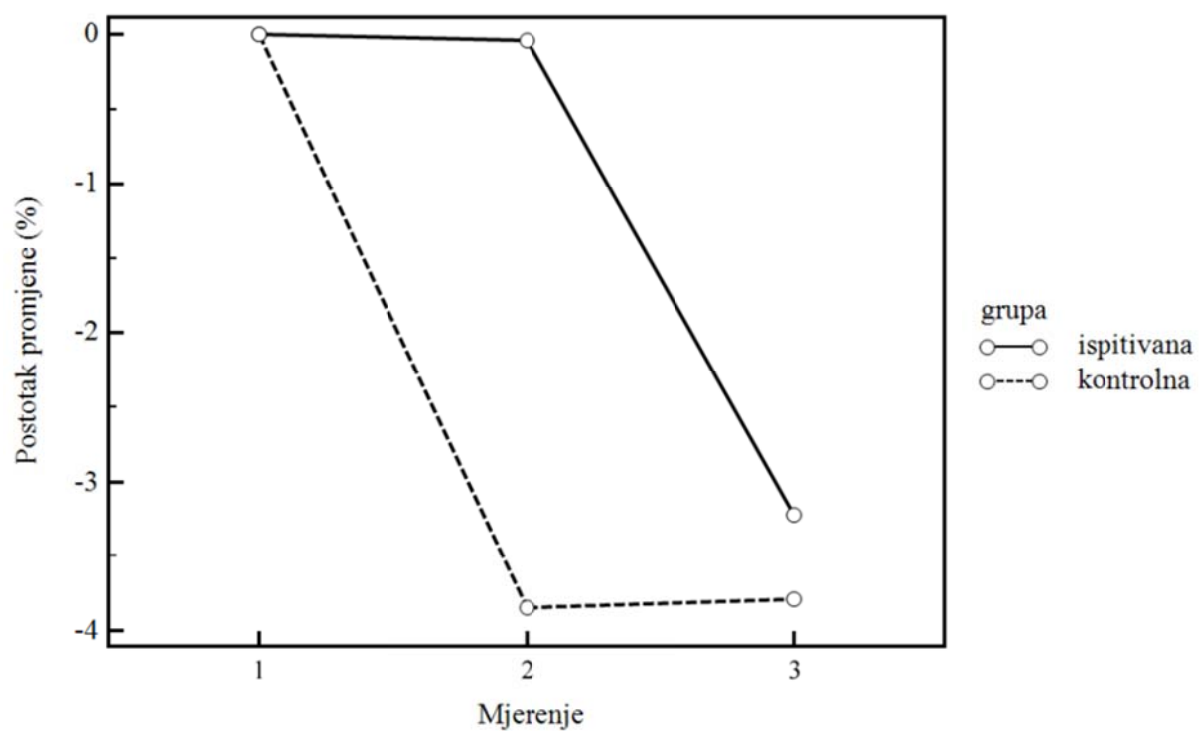
Tablica 13. Promjena gustoće koštane mase kontrolne skupine.

<b>Kontrolna skupina razlika BMD-a između drugog i prvog mjerenje</b>				
<b>Varijabla</b>	<b>Najmanja vrijednost</b>	<b>Najveća vrijednost</b>	<b>Srednja vrijednost</b>	<b>Standardna devijacija</b>
Slabinska kralježnica	-16.5	1.4	-6.5	4.45
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-17.8	15.2	-3.8	8.69
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-23.1	8.4	-6.6	7.66
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-22.5	18.7	-7.4	12.30
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-15.1	3.4	-1.6	4.90
<b>Kontrolna skupina razlika BMD-a između trećeg i prvog mjerenje</b>				
Slabinska kralježnica	-16.5	4.1	-5.7	5.38
Vrat bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-15.8	5.3	-3.8	6.27
Trohanter bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-12.1	9.1	-2.9	6.48
Wardov trokut bedrene kosti BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-28.8	7.2	-8.7	9.61
33% distalnog radijusa BMD (g/cm <sup>2</sup> )	-15.6	0.5	-2.8	4.63

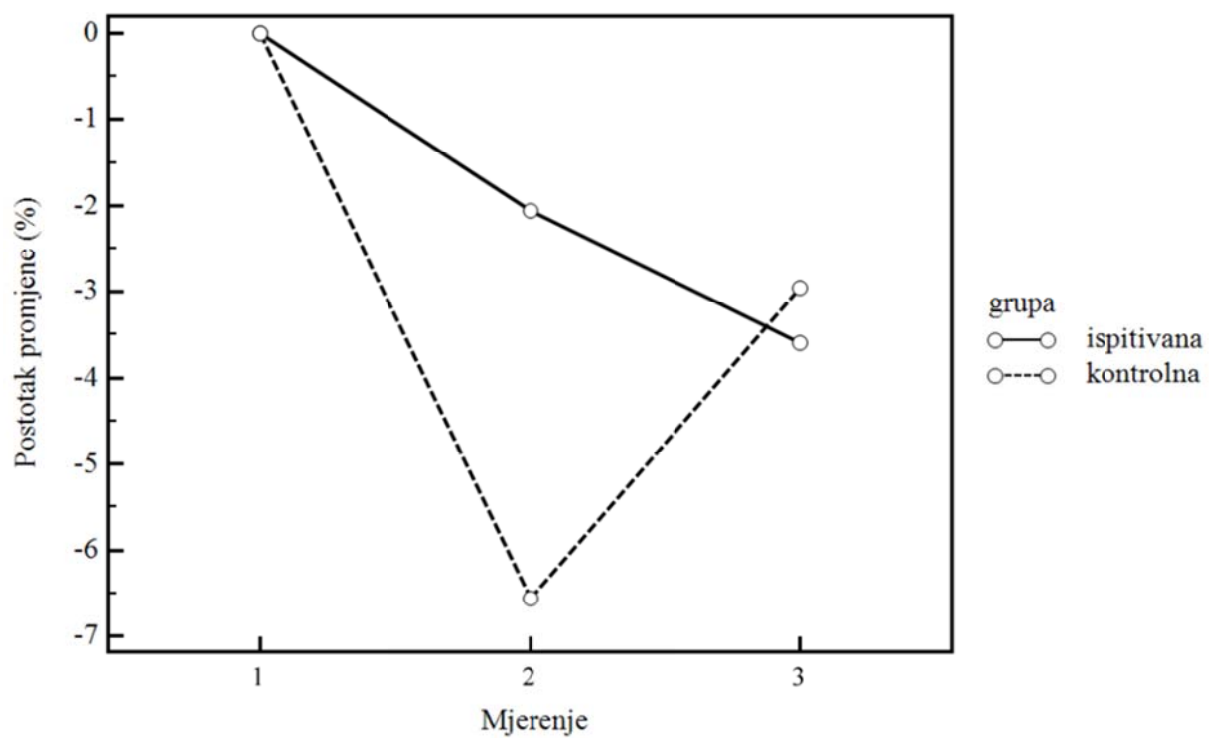
Na slikama (Slika 10, Slika 11, Slika 12, Slika 13 i Slika 14) je usporedno grafički prikazan postotak promjene mineralne gustoće kosti za denzitometrijom promatrana područja. Prva točka predstavlja nulto stanje, druga točka je srednja vrijednost postotka promjena između drugog i prvog mjerenja, a treća točka je srednja vrijednost postotka promjene između trećeg i prvog mjerenja. U svim grafovima je jasno uočljiv veći gubitak mineralne gustoće kosti u kontrolnoj skupini.



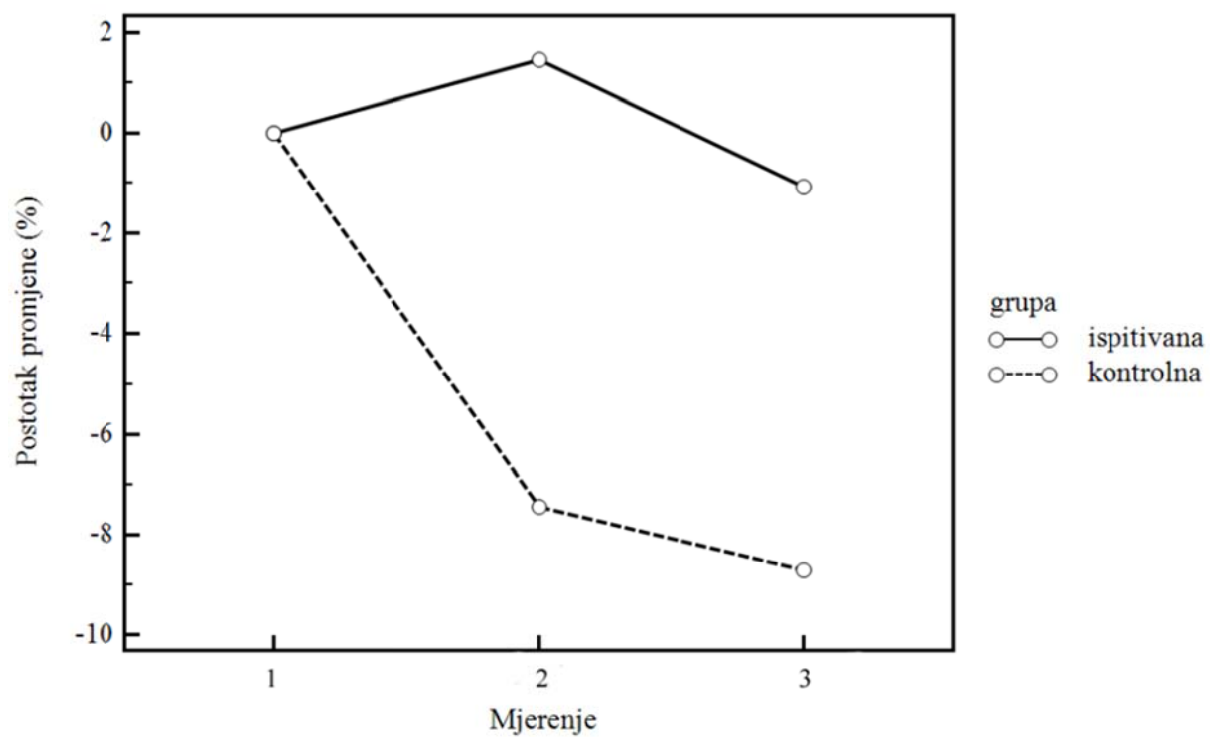
Slika 10. Usporedni grafički prikaz postotka promjene mineralne gustoće kosti za područje lumbalne kralježnice.



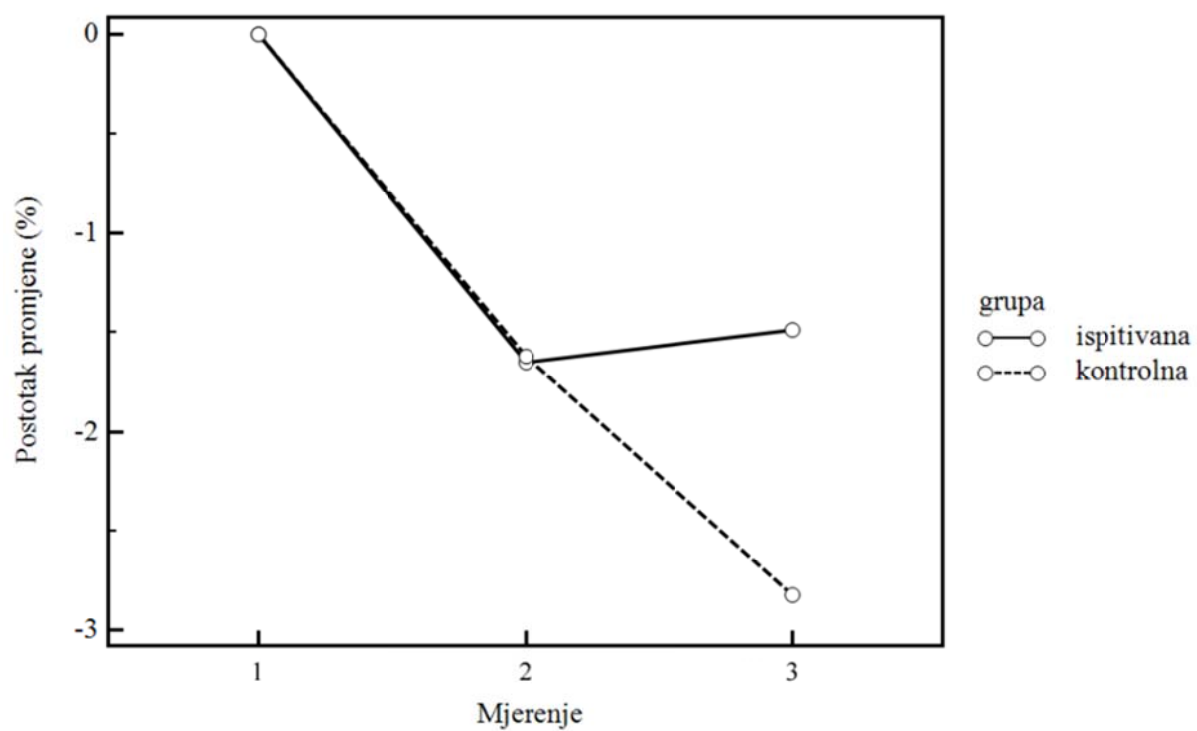
*Slika 11. Usporedni grafički prikaz postotka promjene mineralne gustoće kosti za područje vrata bedrene kosti.*



*Slika 12. Usporedni grafički prikaz postotka promjene mineralne gustoće kosti za područje trohantera bedrene kosti.*



*Slika 13. Usporedni grafički prikaz postotka promjene mineralne gustoće kosti za područje Ward-ovog trokuta bedrene kosti.*



Slika 14. Usporedni grafički prikaz postotka promjene mineralne gustoće kosti za područje prve trećine distalne trećine radijusa.

#### **4.7. Statistička analiza rezultata denzitometrije unutar i između skupina**

Analiza rezultata denzitometrije po Shapiro Wilk-ovom testu je pokazala da dobivena mjerenja pripadaju normalnoj distribuciji. Stoga je učinjen Student t-test za neovisne uzorke za rezultate prvog mjerenja denzitometrije između skupina. Analiza je pokazala da nema statistički značajne razlike između skupina na početku istraživanja.

Da bi se utvrdila eventualna razlika unutar pojedine skupine između mjerenja, a s obzirom da je učinjeno više od dva mjerenja korištena je ANOVA za ponovljena mjerenja uz posthoc Bonferroni-jevu korekciju. Inicijalno je očekivano da će se u kontrolnoj skupini potvrditi značajan gubitak koštane mase što su pokazali rezultati ranijih istraživanja. Za ispitivanu skupinu je očekivano da će učinak pamidronata biti vidljiv kroz porast ili nepromijenjenost gustoće koštane mase.

Analiza je rađena za varijable mineralne gustoće kosti, T vrijednost te Z vrijednost. U ispitivanoj skupini ANOVA nije pokazala statističku značajnost niti u jednoj promatranoj varijabli (Tablica 14). U kontrolnoj skupini uočena je razlika za lumbalnu kralježnicu, trohanter bedrene kosti te Wardov trokut bedrene kosti (Tablica 15). U posthoc analizi za lumbalnu kralježnicu razlika je između prvog mjerenja naprama drugom i trećem mjerenju. Za trohanter između prvog naprama drugom mjerenju te za Wardov trokut između prvog naprama trećem mjerenju.

Isto je učinjeno za T i Z vrijednost te nije uočena razlika za ispitivanu skupinu. U kontrolnoj skupini postoji značajna razlika za lumbalnu kralježnicu, trohanter bedrene kosti i Wardov trokut bedrene kosti. Posthoc analiza je pokazala za lumbalnu kralježnicu razliku između prvog naprama drugom i trećem mjerenju, za

trohanter između prvog naprama drugom mjerenju, a za Wardov trokut između prvog naprama trećem mjerenju (Tablica 16).

*Tablica 14. ANOVA za ponovljena mjerenja za ispitivanu skupinu.*

<b>BMD</b>		<b>F vrijednost</b>	<b>p vrijednost</b>
BMDL	Sphericity Assumed	2.151	0.133
FVBMD	Greenhouse-Geisser	2.344	0.132
FTBMD	Greenhouse-Geisser	2.421	0.126
FWBMD	Greenhouse-Geisser	0.337	0.643
RBMD	Sphericity Assumed	2.817	0.075
<b>T vrijednost</b>			
TL	Greenhouse-Geisser	2.275	0.136
TFV	Greenhouse-Geisser	1.276	0.288
TFT	Greenhouse-Geisser	1.973	0.172
TFW	Greenhouse-Geisser	0.393	0.591
TR	Sphericity Assumed	2.602	0.090
<b>Z vrijednost</b>			
ZL	Greenhouse-Geisser	1.353	0.271
ZFV	Sphericity Assumed	1.401	0.261
ZFT	Greenhouse-Geisser	1.913	0.178
ZFW	Greenhouse-Geisser	0.374	0.612
ZR	Sphericity Assumed	1.973	0.156

L=lumbalna kralježnica, FV=vrat bedrene kosti, FT=trohanter bedrene kosti, FW=Wardov trokut bedrene kosti, R=33% distalnog radijusa



Tablica 15. ANOVA za ponovljena mjerenja za kontrolnu skupinu.

<b>BMD</b>		<b>F vrijednost</b>	<b>P vrijednost</b>
lbmd	Sphericity Assumed	11.529	0.000
fvbmd	Sphericity Assumed	2.388	0.112
ftbmd	Sphericity Assumed	6.528	0.005
fwbmd	Sphericity Assumed	5.165	0.013
rbmd	Sphericity Assumed	1.830	0.180
<b>T vrijednost</b>			
TL	Sphericity Assumed	9.750	0.001
TFV	Sphericity Assumed	2.427	0.108
TFT	Sphericity Assumed	6.342	0.006
TFW	Sphericity Assumed	5.157	0.013
TR	Sphericity Assumed	1.472	0.248
<b>Z vrijednost</b>			
ZL	Sphericity Assumed	8.745	0.001
ZFV	Sphericity Assumed	1.792	0.187
ZFT	Sphericity Assumed	5.839	0.008
ZFW	Sphericity Assumed	3.923	0.032
ZR	Sphericity Assumed	1.510	0.240

L=lumbalna kralježnica, FV=vrat bedrene kosti, FT=trohanter bedrene kosti, FW=Wardov trokut bedrene kosti, R=33% distalnog radijusa

Tablica 16. Rezultati statističke analize mjerenja denzitometrije između i unutar ispitivane i kontrolne skupina.

		Ispitivana skupina			Kontrolna skupina		
		Prvo mjerenje	Drugo mjerenje	Treće mjerenje	Prvo mjerenje	Drugo mjerenje	Treće mjerenje
Lumbalna kralježnica	<b>BMD<sup>a</sup></b>	1.01±0.16	1.00±0.14	0.99±0.15	0.98±0.21	<b>0.92±0.21<sup>c</sup></b>	<b>0.92±0.19<sup>c</sup></b>
	T score	-0.59±1.46	-0.67±1.31	-0.80±1.40	-0.77±1.88	<b>-1.33±1.92<sup>c</sup></b>	<b>-1.26±1.72<sup>c</sup></b>
	Z score	-0.17±1.37	-0.21±1.27	-0.33±1.38	-0.26±1.81	<b>-0.79±1.88<sup>c</sup></b>	<b>-0.70±1.61<sup>d</sup></b>
Vrat bedrene kosti	BMD	0.82±0.19	0.81±0.16	0.78±0.15	0.73±0.11	0.70±0.11	0.71±0.11
	T score	-1.22±1.65	-1.33±1.39	-1.48±1.33	-1.84±1.02	-2.13±1.08	-2.11±1.10
	Z score	-0.25±1.53	-0.31±1.26	-0.51±1.25	-0.90±0.97	-1.16±1.04	-1.11±1.02
Trohanter bedrene kosti	<b>BMD<sup>a</sup></b>	0.73±0.16	0.71±0.15	0.70±0.14	0.62±0.13	<b>0.59±0.14<sup>d</sup></b>	0.60±0.12
	T score	-0.44±1.38	-0.62±1.37	-0.70±1.31	-1.32±1.35	<b>-1.70±1.48<sup>d</sup></b>	-1.53±1.27
	Z score	0.00±1.32	-0.16±1.32	-0.25±1.28	-0.87±1.26	<b>-1.24±1.37<sup>d</sup></b>	-1.05±1.14
Wardov trokut bedrene kosti	<b>BMD<sup>b</sup></b>	0.70±0.24	0.70±0.21	0.68±0.22	0.60±0.12	0.56±0.11	<b>0.55±0.13<sup>d</sup></b>
	T score	-0.98±2.03	-1.04±1.78	-1.15±1.81	-1.80±1.11	-2.24±0.95	<b>-2.26±1.17<sup>d</sup></b>
	Z score	0.44±1.71	0.44±1.45	0.29±1.56	-0.31±0.88	-0.72±0.83	<b>-0.69±0.96<sup>d</sup></b>
33% distalnog radijusa	BMD	0.68±0.10	0.67±0.10	0.67±0.10	0.63±0.10	0.62±0.10	0.61±0.09
	T score	-1.71±1.49	-1.92±1.46	-1.90±1.46	-1.95±1.79	-2.14±2.12	-2.18±1.88
	Z score	-1.15±1.45	-1.34±1.46	-1.30±1.40	-1.36±1.80	-1.54±2.15	-1.67±2.01

Nema statistički značajne razlike između skupina u prvom mjerenju za BMD, T i Z vrijednost (Student t-test za neovisne uzorke)

a promjena u vremenu, ANOVA p<0.01

b promjena u vremenu, ANOVA p<0.05

c promjena u vremenu, posthoc analiza p<0.01

d promjena u vremenu, posthoc analiza p<0.05

#### **4.8. Statistička analiza postotka promjene gustoće koštane mase između skupina**

Važno je prikazati da li se uočena razlika u iznosu gubitka koštane mase kontrolne naprama ispitivane skupine može pripisati primjeni lijeka ili je slučajna. Slično je i predloženo u pismu uredniku kao odgovor na rad Fana i suradnika (98). Prvo je učinjena analiza normalnosti distribucije podataka, čime je potvrđena pripadnost spomenutoj raspodjeli. Zatim je proveden Student t-test za neovisne uzorke koji je potvrdio jasnu razliku na lumbalnoj kralježnici na 6 mjeseci, za trohanter nije potvrđena razlika, a za Wardov trokut je pokazana granična razlika na šest mjeseci dok je primjena ANOVA-ea unutar pojedinih grupa pokazala razliku na 12 mjeseci (Tablica 17 i Tablica 18)

*Tablica 17. Analiza postotka promjene gustoće koštane mase između drugog i prvog mjerenja.*

varijabla	t vrijednost	p vrijednost
<b>lumbalna kralježnica</b>	-3.407	0.002
<b>vrat bedrene kosti</b>	-1.361	0.184
<b>tohanter bedrene kost</b>	-1.645	0.111
<b>Wardov trokut bedrene kosti</b>	-2.041	0.050
<b>33% distalnog radijusa</b>	0.019	0.985

*Tablica 18. Analiza postotka promjene gustoće koštane mase između ispitivane i kontrolne skupine.*

varijabla	t vrijednost	p vrijednost
<b>lumbalna kralježnica</b>	-1.889	0.069
<b>vrat bedrene kosti</b>	-0.215	0.831
<b>tohanter bedrene kost</b>	0.224	0.825
<b>Wardov trokut bedrene kosti</b>	-1.916	0.065
<b>33% distalnog radijusa</b>	-0.774	0.445

## 5. RASPRAVA

Ovo istraživanje je provedeno sa ciljem da se utvrdi mogućnost korištenja niskih doza intravenski primijenjenog bisfosfonata pamidronata u svrhu smanjenja gubitka koštane mase kod bolesnika u tijeku prve godine nakon transplantacije bubrega. Mjerenje gustoće koštane mase provedeno je kod svih bolesnika pomoću DXA denzitometrije na tri tipične lokacije (lumbalna kralježnica, femur i distalni radijus) u tri navrata (unutar 30 dana od transplantacije bubrega, te na 6 i 12 mjeseci od transplantacije bubrega).

U ispitivanoj skupini zabilježen je gubitak koštane mase na lumbalnoj kralježnici od prosječno -0.7% između prvog i drugog mjerenja te od -2.1% između prvog i trećeg mjerenja. U kontrolnoj skupini zabilježen je prosječni gubitak na lumbalnoj kralježnici od -6.5% odnosno -5.7%. Gubitak koštane mase u kontrolnoj skupini odgovara očekivanom gubitku koštane mase koji je priopćen u drugim studijama. Tako su Julian et al. u svojoj studiji priopćili prosječni gubitak koštane mase na lumbalnoj kralježnici na šest mjeseci -6.8%, a na 18 mjeseci -8.8.% (24).

S obzirom da se radilo o tri mjerenja, u statističkoj analizi eventualne promjene gustoće koštane mase unutar skupine korišten je ANOVA test. U ispitivanoj skupini nije bilo statistički značajne promjene gustoće koštane mase između tri provedena mjerenja. U kontrolnoj skupini promjena gustoće koštane mase bila je statistički značajna  $p < 0.01$  pri čemu je posthoc analizom utvrđeno da se drugo i treće mjerenje razlikuju od prvog. Ovaj nalaz u kontrolnoj skupini odgovara očekivanom gubitku koštane mase kod bolesnika nakon transplantacije bubrega, dok se nepostojanje statistički značajnog gubitka koštane mase u ispitivanoj skupini može dovesti u vezu

sa primijenjenom terapijom tj. pamidronatom. Isti rezultat je potvrđen i analizom T i Z vrijednosti na lumbalnoj kralježnici.

Prva studija u kojoj je analiziran utjecaj bisfosfonata pamidronata na prevenciju gubitka koštane mase nakon transplantacije bubrega bila je studija Fan i. sur. (90). U ovoj studiji također je prikazan utjecaj primijenjenog lijeka na prevenciju gubitka koštane mase na lumbalnoj kralježnici. No kako je Ole Lander Svendsen primijetio u kasnijem pismu autorima (98) dodatno je trebalo učiniti statističku analizu između postotka gubitka koštane između dvije promatrane skupine jer je to način da se uočena razlika može pripisati primjeni lijeka, odnosno dokaz da ona nije slučajna. Upravo iz tog razloga, u ovom istraživanju učinjena je usporedba postotka gubitka koštane mase između ispitivane skupine u odnosu na kontrolnu skupinu te je uočena statistički značajna razlika između skupina za promjenu između prvog i drugog mjerenja uz  $p=0.002$ . Ovaj rezultat ukazuje na značajan učinak primijenjene terapije na smanjenje gubitka koštane mase na lumbalnoj kralježnici i odgovara činjenici da je očekivan najveći učinak na trabekularnoj kosti koja i čini veći dio mase kralježaka. Naime poznato je da kortikosteroidi u prvim mjesecima terapije najviše utječu na gubitak kosti u području trabekularne kosti (99).

Identična usporedba između ispitivane i kontrolne skupine provedena je i na ostalim promatranim lokacijama tj . trohanteru, vratu i Wardovom trokutu bedrene kosti te distalnoj trećini radijusa. Statistički značajne promjene uočene su za trohanter bedrene kosti te za Wardov trokut bedrene kosti. Prosječni gubitak koštane mase za trohanter bedrene kosti u ispitivanoj skupini između prvog i drugog mjerenja odnosno prvog i trećeg mjerenja iznosio je -2.1% odnosno -3.6%. Za kontrolnu skupinu ovaj gubitak je iznosio -6.6% odnosno -2.9%. Za Wardov trokut ovaj gubitak koštane mase u ispitivanoj skupini iznosio je +1.5% odnosno -1.1%, a u kontrolnoj

skupini -7.4% odnosno -8.7%. ANOVA analiza je pokazala statistički značajnu razliku za mjerenja unutar kontrolne skupine za trohanter ( $p < 0.01$ ) i Wardov trokut ( $p < 0.05$ ) bedrene kosti. U posthoc analizi izdvojena je razlika za drugo u odnosu na prvo mjerenje na trohanteru bedrene kosti, a na treće u odnosu na prvo mjerenje za Wardov trokut bedrene kosti.

Kasnija analiza između postotaka gubitka koštane mase između ispitivane i kontrolne skupine za trohanter bedrene kosti nije uočena statistički značajna razlika dok je za Wardov trokut bedrene kosti između drugog i prvog mjerenja  $p$  iznosio točno 0.05 stoga možemo zaključiti da je i na ovom lokalitetu vidljiv učinak primijenjene terapije.

Cochrane-ova kolaboracija učinila je meta analizu i objavila pregledni rad u kojem su analizirane randomizirane kontrolirane studije koje su primijenile neki od terapijskih oblika prevencije gubitka koštane mase uzrokovane imunosupresijom u ranom periodu nakon transplantacije bubrega (100). Zaključak preglednog članka je da liječenje bisfosfonatima, vitaminom D ili kalcitoninom nakon transplantacije bubrega može zaštititi kost od gubitka koštane mase uzrokovane imunosupresijom te posljedično utjecati na prevenciju fraktura. Međutim, svakako su potrebne daljnje studije da bi utvrdile koji oblik liječenja je bolji za prevenciju fraktura u ovoj populaciji. Najbolji način, vrijeme i trajanje primijenjenog tretmana ostaju i dalje nepoznati.

Naime gubitak koštane mase nakon transplantacije bubrega predstavlja važan klinički problem. Preživljenje bolesnika nakon transplantacije bubrega se progresivno popravlja (101). Isto mogu potkrijepiti i rezultati za bolesnike transplantirane u našoj Klinici gdje je u razdoblju od 1.1.2007. do 31.12.2011 preživljenje na 12 mjeseci iznosilo 98.5%, a u razdoblju od pet godina 95.1%. Upravo stoga, potrebno je paziti na mogućnost kasnih komplikacija transplantacije te poboljšanje kvalitete života ovih

bolesnika. Pojava fraktura kosti koja se može dogoditi kod ovih bolesnika svakako značajno utječe na kvalitetu života. Poznato je da bolesnici u trenutku transplantacije imaju podležeću renalnu osteodistrofiju i povećanu vjerojatnost frakture kosti (102). Bolesnici koji imaju kroničnu bubrežnu bolest imaju povišeni rizik od frakture te je u ovoj populaciji prevalencija frakture kralježaka 21%, a relativni rizik za frakturu kuka je 14 puta veći (103). Rizik od frakture kosti je za bolesnike s transplantiranim bubregom četiri puta veći od opće populacije te je viši i u usporedbi sa bolesnicima na hemodijalizi (6, 23). Sama transplantacija bubrega dodatno doprinosi riziku od frakture kosti ponajviše s primjenom imunosupresivne terapije te mogućnosti razvoja trajnog hiperparatiroidizma. Tako je više studija priopćilo prevalenciju fraktura kosti nakon transplantacije bubrega od 7-60% (8, 28, 104-107) odnosno 2% godišnje (6, 108).

Važno je reći da primatelji bubrega nakon transplantacije gube vrlo brzo u prvoj godini nakon transplantacije koštanu masu, pogotovo u području trabekularne kosti (24, 29, 30, 109). Ovaj prosječni gubitak koštane mase na lumbalnoj kralježnici može iznositi npr. za šest mjeseci 6.8%, a za 18 mjeseci od transplantacije bubrega 8.8.% (24). U longitudinalnoj studiji gubitak koštane mase iznosi prosječno 1.7% godišnje (110). U bolesnika kojima je proteklo tri i više godina od transplantacije bubrega gubitak koštane mase ne mijenja značajno, može čak i djelomično porasti no uvijek je niži od gustoće koštane mase opće populacije (109). Ovakvo inicijalno stanje kosti te ubrzana pregradnja nakon transplantacije bubrega uz izraženi gubitak koštane mase svakako značajno povećava mogućnost prijeloma kosti uz posljedični utjecaj na morbiditet i kvalitetu života ovih bolesnika. Upravo iz navedenih razloga važno je utjecati na ovaj gubitak koštane mase te osmisлити i predložiti potencijalni preventivni postupak.



Do sada je više autora istraživalo učinak terapije bisfosfonatima na prevenciju gubitka koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije bubrega. Pretraživanje MEDLINE baze podataka (tijekom srpnja 2012. godine), za potrebe ovog istraživanja, korištenjem ključnih riječi „bisphosphonates“, „renal“ i „transplantation“ ponudilo je kao inicijalni rezultat 183 znanstvena članka. Pregledom naslova rada i sažetaka navedenih članaka 32 članka odgovarala su kriterijima istraživanja. Od svih njih, nakon pregleda cjelokupnog teksta članaka, ukupno 12 studija odgovarale su sljedećem kriteriju: primjena bisfosfonata u svrhu prevencije gubitka koštane mase (mjereno DXA denzitometrijom) u ranom periodu nakon transplantacije bubrega. Sažeti prikaz ovih studija je u Tablica 19.

*Tablica 19. Prikaz karakteristika objavljenih studija učinka bisfosfonata na prevenciju gubitka koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije bubrega.*

studija	bisfosfonat	skupine	broj bolesnika	pozitivan učinak na	tip populacije
<b>1998 Grotz et al.(64)</b>	clodronate	Clodronate/calcitonin/kontrola	15/16/15	lumbalnu kralježnicu	osteopenija ili osteoporoza
<b>2000 Fan et al.(90)</b>	pamidronate	pamidronate/placebo	14//12	lumbalnu kralježnicu i vrat femura	muški bolesnici
<b>2000 Nam et al.(94)</b>	pamidronate	pamidronate/calcitriol/kontrola	15/15/20	lumbalnu kralježnicu i vrat femura	bez selekcije
<b>2001 Grotz et al.(26)</b>	ibandronate	ibandronate/kontrola	40/40	lumbalnu kralježnicu i vrat femura	bez selekcije
<b>2001 Kovac et al.(111)</b>	alendronate	alendronate/kontrola	6//14	lumbalnu kralježnicu	osteopenija ili osteoporoza
<b>2003 Coco et al.(89)</b>	pamidronate	pamidronate/kontrola	36/36	lumbalnu kralježnicu	bez selekcije
<b>2003 Haas et al.(91)</b>	zoledronate	zolendronate/placebo	10//10	lumbalnu kralježnicu i vrat femura	bez selekcije
<b>2005 El Agroudy et al.(112)</b>	alendronate	alfacalcidol/alendronate/calcitonin/kontrola	15/15/15/15	lumbalnu kralježnicu i vrat femura	muški bolesnici
<b>2007 Nayak et al.(113)</b>	alendronate	alendronate/kontrola	27/23	vrat femura	bez selekcije
<b>2009 Walsh et al.(95)</b>	pamidronate	pamidronate/kontrola	46/47	lumbalnu kralježnicu, Wardov trokut i femur ukupno	bez selekcije
<b>2010 Torregrosa et al.(114)</b>	risedronate	risedronate/kontrola	52/49	lumbalnu kralježnicu i vrat femura	bez selekcije
<b>2011 Torregrosa et al.(93)</b>	pamidronate	pamidronate/placebo	24/15	lumbalnu kralježnicu	osteopenija

U ovom istraživanju primjenjivali smo pamidronat koji je intravenski bisfosfonat. Kao što vidimo podjednak broj autora se odlučio kako za intravenske (26, 89-91, 93-95) tako i za peroralne (64, 111-114) bisfosfonate. Prednost primjene intravenskih bisfosfonata leži u jednostavnijoj primjeni jer za razliku od peroralnih pripravaka većinom ne zahtijevaju svakodnevnu primjenu i potrebu za zadržavanjem uspravnog položaja radi smanjenja mogućnosti nuspojava tj. oštećenja jednjaka. Nadalje, u našoj shemi primjene bolesnici su trebali u samo dva navrata primiti pamidronat.

Primjena intravenskih bisfosfonata može imati nefrotoksični učinak koji može dovesti do potpunog zatajenja bubrega (78-80, 115). To je apsolutno nepoželjna nuspojava, a pogotovo u bolesnika kojima je transplantiran bubreg. U svim do sad objavljenim studijama u kojima je korišten pamidronat kod transplantiranih bolesnika nije zamijećena ova nuspojava. Navedena nefrotoksičnost prvenstveno ovisi o primijenjenoj dozi lijeka i trajanju same infuzijske primjene te razmaku između primijenjenih doza lijeka (85). Radi navedenoga u našoj studiji smo se odlučili za primjenu niskih doza pamidronata tj. 0.05mg/kg uz sporu intravensku primjenu lijeka u trajanju od tri sata. Sveukupno su primijenjene dvije doze u razmaku od mjesec dana. Budući da i sam proizvođač lijeka ne savjetuje primjenu kod bolesnika s klirensom kreatinina  $< 30$  ml/min primijenili smo lijek tek kada su bolesnici imali vrijednosti kreatinina  $< 200$   $\mu$ mol/L. U ovom istraživanju, u cjelokupnom promatranom periodu, prosječna vrijednost kreatinina iznosila je manje od 150  $\mu$ mol/L, te su na kraju studije kod svih bolesnika presadci bili u funkciji. Nadalje, između skupina nije bilo nikakve razlike između mjerenja i kretanja serumske vrijednosti kreatinina. Sve ovo upućuje na činjenicu da primjena pamidronata u našoj studiji nije nepovoljno utjecala na funkciju presatka.

Osnovni cilj ovog istraživanja je bio utvrditi dali je moguće s pamidronatom prevenirati gubitak koštane mase uzrokovan imunosupresijom u ranom periodu nakon transplantacije bubrega. Cilj nije bio postići porast koštane mase nego samo prevencija gubitka. Tako je i odabrana doza od 0.05 mg/kg primijenjena u dvije jednomjesečne doze, prva unutar prvog mjeseca od transplantacije, a druga mjesec dana nakon prve. Drugi autori koji su koristili pamidronat odlučili su se za slične, ali i drugačije sheme doziranja. Tako su Fan i sur. odlučili koristiti 0.05mg/kg primijenjeno preoperativno te mjesec dana nakon (90). Nam i sur. su davali 30mg pamidronata počevši od drugog tjedna nakon transplantacije svakih četiri tjedna kroz šest mjeseci (94). U studiji Coca i sur. bolesnici su primali 60mg pamidronata 48 sati nakon transplantacije, a potom 30mg pamidronata u mjesecima 1, 2, 3 i 6 (89). U studiji Walsha i sur. bolesnici su primili 1 mg/kg unutar 14 dana od transplantacije te potom 1 mg/kg u mjesecima 1, 4, 8 i 12 (95). Konačno u studiji Torregrose i sur. odlučili su se za dozu od 30 mg primijenjenu 7-10 dana nakon transplantacije te još jednu primijenjenu 3 mjeseca nakon transplantacije (93). Sve ove studije su postigle očekivani učinak tj prevenciju gubitka koštane mase i to neznatnu promjenu BMD-a na lumbalnoj kralježnici (93) te na lumbalnoj kralježnici i vratu femura (89, 90), a neki autori su zabilježili i porast BMD-a na lumbalnoj kralježnici (94, 95) i vratu femura (94). Vidljivo je da je porast gustoće koštane mase izraženiji u studijama koje su koristile više doze pamidronata tj. studija Nam i sur. te Walsh i sur. Međutim ostaje pitanje studije Coca i sur. koji su koristili dozu pamidronata u pet navrata, a zabilježeni učinak nije proporcionalan. Djelomični odgovor na ovo može dati podgrupa bolesnika u ovoj studije tj. bolesnicima kojima je rađena obiteljska transplantacije bubrega rađena je i biopsija kosti inicijalno te nakon šest mjeseci. Poznato nam je da je biopsija kosti te kasnija histomorfometrijska analiza izvrsna

dijagnostička metoda za procjenu promjena metabolizma kosti (55). Ovi bolesnici su već inicijalno u pola slučajeva imali promjene koje odgovaraju niskom stupnju pregradnje kosti. Nakon šest mjeseci svi bolesnici u skupini koja je primala pamidronat su imali histološke promjene sukladne sa adinamičnom bolesti kosti. Tako je i jedan od zaključaka njihove studije da pamidronat može utjecati na razvoj adinamične bolesti kosti. U našoj studiji može se izdvojiti kao surogat mjera razina alkalne fosfataze. Ona je u ispitivanoj skupini značajno manja nego u kontrolnoj skupini što se može tumačiti kao stabilizacija do smanjenje stupnja pregradnje kosti u ispitivanoj skupini.

Svakako je potencijalni ograničavajući faktor primjene bisfosfonata njihov utjecaj na smanjenje koštane pregradnje te mogućnost izazivanja adinamične bolesti kosti (86). Pokazano je da bolesnici nakon transplantacije bubrega mogu razviti promjene koje odgovaraju niskom stupnju pregradnje kosti (116). Prevalencijska studija na bolesnicima s transplantiranim bubregom ukazala je na visoku prevalenciju smanjene koštane pregradnje i adinamične bolesti kosti (8). S druge strane, stanje niske pregradnje kosti povezano je s povećanom incidencijom fraktura kod bolesnika na dijalizi (117, 118). Potreban je, stoga, veliki oprez te je potrebno činiti sve da se smanji mogućnost nastanka adinamične bolesti kosti pogotovo dok nije poznato da li potencijalna dobit tj. prevencija gubitka koštane mase kod transplantranih bolesnika može smanjiti pojavnost fraktura kosti.

Frakture kosti su kod bolesnika s transplantiranim bubregom i do 3 puta učestalije nego kod sličnih bolesnika na dijalizi, a u dijabetičara s transplantiranim bubregom iznose do 40% na tri godine (6). Gubitak koštane mase je izravno povezan s rizikom za frakturu kosti (119, 120), iako ne toliko u ovoj subpopulaciji bolesnika kao kod bolesnika s primarnom osteoporozom (6). Kliničke smjernice za

transplantaciju bubrega preporučuju korištenje bisfosfonata kod bolesnika sa smanjenom gustoćom koštane mase (55, 121).

Nekoliko studija koje su primjenjivale bisfosfonate kod bolesnika s transplantiranim bubregom pokušalo je dati odgovor na pitanje redukcije fraktura kosti (26, 64, 89, 91, 95, 104). Međutim, i dalje nema odgovora na ovo pitanje, tako da i posljednja Cochrane-ova metaanaliza zaključuje da trenutno nikakav oblik liječenja (bisfosfonati, vitamin D, kalcitonin) nije povezan sa smanjenjem rizika od frakture kosti u usporedbi s placebom (100). Ovo svakako postavlja pitanje da li je BMD dobra surogat mjera za rizik od frakture u bolesnika s transplantiranim bubregom. Opisano je da je sniženi BMD samo jedan faktor povećane sklonosti frakturama uz poremećaj arhitekture kosti, mineralizacije i stupanj koštane pregradnje te uz još neke nekoštane faktore kao što je dijabetes (122). Međutim, potrebno je znati da su frakture kralježaka obično klinički „tihe“ u odnosu na frakture u području udova npr. fraktura kuka. Prema tome, samo bilježenje klinički jasnih fraktura može značajno podcijeniti stupanj pojavnosti fraktura kosti u ovoj populaciji. Tako su Grotz i sur. aktivno pratili i bilježili promjene u području lumbalne kralježnice te su pronašli smanjenje deformiteta lumbalnih kralježaka kod bolesnika nakon transplantacije bubrega uz primjenu ibandronata (26). Iako su i drugi autori zabilježili smanjenje učestalosti fraktura uz primjenu bisfosfonata ovaj podatak obično nije statistički značajan radi malog broja fraktura i broja bolesnika (95). Učestalost fraktura u nekim studijama profilaktične primjene bisfosfonata opisala je incidenciju fraktura 8.8%-15% u skupini bolesnika koji nisu primali lijek, u usporedbi sa 2-9.2% u skupini koja je primala lijek (26, 64, 89, 91, 104). Iz toga proizlazi da bi za studiju snage od 80% da se otkrije smanjenje fraktura od 50% trebalo uključiti 266 bolesnika, što do sada nije slučaj niti za jednu studiju (100).

Dosadašnje studije su nepobitno pokazale učinak bisfosfonata na prevenciju gubitka koštane mase u ranom postransplantacijskom periodu. U pravilu, ovaj gubitak se događa kod bolesnika nakon transplantacije bubrega kao učinak imunosupresivne terapije. Kostí djece, mladih muškaraca i žena u menopauzi su posebno osjetljive na gubitak koštane mase uzrokovan kortikosteroidnom terapijom (50). Nakon transplantacije bolesnici od posebnog rizika su žene u menopauzi u odnosu na muškarce (36) te bolesnici koji imaju dijabetes ili su imali istovremenu transplantaciju bubrega i gušterače. Učestalost fraktura je 5% godišnje kod bolesnika s dijabetesom (6, 36), a kod bolesnika s transplantacijom bubrega i gušterače može biti i do 12% godišnje (49, 105, 123). Izvješteno je i o različitom uzorku gubitka koštane mase između muškaraca i žena, tako su Almond i sur. pokazali da je gubitak koštane mase kod žena prvenstveno na lumbalnoj kralježnici, a kod muškaraca na vratu bedrene kosti (29).

Studije primjene bisfosfonata nakon transplantacije bubrega provedene su na različitim subpopulacijama kao što su bolesnici s dokazanom osteopenijom i osteoporozom (64, 93, 111), potom bolesnici muškog spola (90, 112) te na kraju studije koje nisu radile sličnu selekciju (26, 89, 91, 94, 95, 113, 114) kao što je to slučaj i u ovom istraživanju.

Za sada nam još nije poznato trebamo li liječiti sve bolesnike ili samo one koji imaju najveći rizik od frakture kosti. Još 2000. godine u svom editorialu su Weber i Quarles predložili da je za sada razumno liječiti bolesnike koji imaju povećani rizik od frakture tj. bolesnike s postojećim frakturama, bolesnike s teškom osteoporozom ( $T \leq -2.5$ ), dijabetesom, istovremenom transplantacijom bubrega i gušterače te žene u menopauzi (97). Još uvijek ne postoji odgovor na ovu dilemu, ali nadati se je da će buduća istraživanja dati precizniji odgovor. Svakako će u obzir trebati uzeti i

ekonomski trošak kako zbrinjavanja komplikacija fraktura kosti tako i potencijalnog davanja terapije.

Iako je gubitak koštane mase najizraženiji u prvoj godini nakon transplantacije bubrega iz longitudinalne studije poznato je da i u daljnjem posttransplantacijskom periodu prisutna promjena koštane mase od prosječno -1.7% godišnje (110). Kako se bisfosfonati u koštanom tkivu zadržavaju dugo (mjesecima pa i godinama), bi bilo opravdano dugotrajno praćenje za procjenu učinka i mogućih nuspojava. Podatak o eventualnom daljnjem učinku primijenjene bisfosfonatne terapije na kost susreće se kod dvije grupe autora. Tako je skupina Fan i sur. izvijestili o stanju koštane mase četiri godine nakon što su bolesnici primili pamidronat (96). Bolesnici koji nisu primili pamidronat izgubili su 12.3% koštane mase na vratu femura što je bilo statistički značajno, a 4.6% na lumbalnoj kralježnici što nije bilo statistički značajno. Bolesnici koji su primili pamidronat nisu imali statistički značajan gubitak koštane mase niti na vratu femura niti na lumbalnoj kralježnici. Ovdje je važno napomenuti da su u promatranoj skupini bili samo muški bolesnici za koje je ista skupina autora pokazala da imaju predispoziciju za gubitak kosti na vratu femura (29).

Druga skupina autora pratila je dugotrajni učinak primijenjenog bisfosfonata na funkciju presatka (124). Izvijestili su da u trogodišnjem intervalu praćenja nakon transplantacije bubrega i primjene pamidronata nije bilo utjecaja na povećanu incidenciju zatajenja presatka niti na mortalitet bolesnika.

Nedostataka ove studije je nekoliko. Prvo, svakako bi veći broj uključenih bolesnika uz mogućnost praćenja biokemijskih parametara pregradnje kosti dao pouzdanije rezultate, ali nažalost i uz značajno poskupljenje troškova istraživanja. Drugo provođenje prave randomizirane kontrolirane studije bi također, utjecao na



bolju prezentaciju rezultata. I treće ova studija nije imala cilj pratiti pojavnost fraktura kosti, a pogotovo za to nije imala dovoljnu statističku snagu.

Rezultati ovog istraživanja su u skladu s postavljenom hipotezom kako će primjena niskih doza pamidronata djelovati preventivno u smislu smanjenja gubitka koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije bubrega. Upravo stoga, je moguće preporučiti ovakvu shemu doziranja pamidronata u svrhu prevencije gubitka koštane mase u ovih bolesnika, a uz minimalni rizik od neželjenih učinaka u vidu nefrotoksičnosti te razvoja adinamične bolesti kosti. Dodatna istraživanja su potrebna radi odgovora na pitanje kod kojih skupina bolesnika bi primjena lijeka bila medicinski i ekonomski opravdana.

## 6. ZAKLJUČCI

Cilj ovog istraživanja je bio ispitati učinkovitost niskih doza pamidronata u prevenciji gubitka koštane mase u bolesnika u prvoj godini nakon transplantacije bubrega.

1. Primjena niske doze pamidronata (0.5mg/kg) nakon uspostave funkcije presatka te mjesec dana nakon prve doze statistički značajno utječe na prevenciju gubitka koštane mase. Smanjenje gubitka koštane mase u ispitivanoj skupini u odnosu na kontrolnu je statistički značajno izraženo na lumbalnoj kralježnici na šest mjeseci te granično izraženo na Wardovom trokutu bedrene kosti isto na šest mjeseci od transplantacije bubrega.
2. Primjena pamidronata bez obvezne primjene nadomjestaka kalcija i vitamina D (osim kada je to medicinski indicirano uz odgovarajuće laboratorijske nalaze) učinkovito prevenira gubitak koštane mase u bolesnika nakon transplantacije bubrega.
3. Primjena pamidronata u ovoj shemi nije negativno utjecala na funkciju presatka.
4. Moguće je savjetovati ovakvu shemu primjene pamidronata kod bolesnika u ranom periodu nakon transplantacije bubrega u svrhu prevencije gubitka koštane mase. Dodatne studije su potrebne da bi dale odgovor na pitanje kod kojih bolesnika bi primjena lijeka bila najviše opravdana.

## 7. SAŽETAK

Uvod: Gubitak koštane mase kod bolesnika nakon transplantacije bubrega predstavlja važan klinički problem budući da se na već postojeće oštećenje kosti (posljedica kronične bubrežne bolesti), koštana masa dodatno gubi radi imunosupresivne terapije. Gubitak koštane mase najviše je izražen u tijeku prve godini nakon transplantacije bubrega.

Bisfosfonati su lijekovi koji smanjuju resorpciju kosti te su se pokazali učinkovitima u liječenju mnogih bolesti, poput osteoporoze i multiplog mijeloma. Dosadašnja istraživanja pokazala su dobar učinak bisfosfonata na prevenciju gubitka kosti nakon transplantacije bubrega. Trenutno, ne postoji ujednačen stav o primjeni navedene terapije, pa tako niti o optimalnoj dozi, trenutku započinjanja s terapijom te trajanju terapije. Cilj ovog istraživanja je ispitati učinkovitost niskih doza pamidronata u prevenciji gubitka koštane mase u prvoj godini nakon transplantacije bubrega.

Bolesnici i metode: U ispitivanju je sudjelovalo 36 bolesnika kojima je transplantiran bubreg u KBC Zagreb. U ispitivanoj skupini koja je primala pamidronat u dozi 0.5mg/kg u dva navrata, unutar mjesec dana od transplantacije bubrega te mjesec dana nakon prve doze lijeka, uključeno je 19 bolesnika. U kontrolnoj skupini uključeno je 17 bolesnika. Promjena koštane mase mjerena je DXA denzitometrijom u tri navrata, neposredno nakon transplantacije bubrega, potom 6 i 12 mjeseci nakon transplantacije.

Rezultati: Istraživanje je potvrdilo učinak pamidronata te je pokazalo smanjenje gubitka koštane mase u ispitivanoj skupini u odnosu na kontrolnu. Smanjenje gubitka koštane mase je statistički značajno na lumbalnoj kralježnici na šest mjeseci te granično izraženo na Wardovom trokutu bedrene kosti isto na šest

mjeseci od transplantacije bubrega. U studiji nije zabilježen negativni učinak primijenjenog lijeka na funkciju presatka.

Zaključak: Pamidronat smanjuje gubitak koštane mase u ranom periodu nakon transplantacije bubrega. Moguće je preporučiti ovakvu shemu doziranja pamidronata u svrhu prevencije gubitka koštane mase, a uz minimalni rizik od neželjenih učinaka. Dodatna istraživanja su potrebna radi dobivanja odgovora na pitanje kod kojih skupina bolesnika bi primjena lijeka bila medicinski i ekonomski opravdana.

## **8. SUMMARY**

### **Efficacy of pamidronate in prevention of bone loss after renal transplantation**

**2013**

**Tomislav Kuliš, MD**

Introduction: Bone loss in kidney transplant recipients presents an important problem since it adds on already present uremic osteodystrophy. Additional bone loss is mostly caused by immunosuppressive therapy (corticosteroids) which follows transplantation. It has been shown that bone loss is most significant during the first 12 months after renal transplantation.

Bisphosphonates are drugs that reduce bone loss and are effective in treatment of diseases that affect bone metabolism. There are some studies reporting that bisphosphonates attenuate bone loss in kidney transplant recipients. However, no consensus has been reached on dosage, initiation and duration of the treatment.

Aim of this study is to test the effectiveness of low dose pamidronate in bone loss prevention during the first year after renal transplantation.

Patients and methods: In this study 35 patients were included after successful renal transplantation in UHC Zagreb. Intervention group (n=19) received two doses of 0.5 mg/kg pamidronate, during first month after transplantation and three months after the first dose. Control group consisted of 17 patients. Bone density was measured by dual energy X-ray absorptiometry (DXA) during hospitalization for renal transplantation, then six and twelve months after renal transplantation.

Results: This study confirmed protective effect of low doses pamidronate on bone in the early period after renal transplantation. Pamidronate significantly reduced bone loss on lumbar spine and at Ward's area of femur at six months after renal transplantation. There were no negative effects of pamidronate on graft function.

Conclusion: Low dose pamidronate reduces bone loss in the early period after renal transplantation. It is possible to recommend this application scheme for prevention of bone loss. Further studies are needed to answer in which patients application of bisphosphonates would be medically and economically justified.

## 9. ŽIVOTOPIS

Rođen sam 1.1.1981. godine u Travniku, Bosna i Hercegovina. Osnovnu školu završio sam u Zagrebu gdje sam maturirao u XV. gimnaziji (MIOC) 1999. godine. Iste godine upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu gdje sam 2005. godine diplomirao. Znanstveni poslijediplomski studij "Biomedicina i zdravstvo" upisao sam 2005. godine, a godinu dana kasnije stručni poslijediplomski studij „Menadžment u zdravstvu“.

Dobitnik sam Rektorove nagrade 2003. godine za rad pod naslovom „PROSIG: simulacijski program za učenje potencijala membrane“ te Dekanove nagrade 2004. godine. Za vrijeme studija sudjelovao sam u nekoliko znanstvenih projekata.

Obvezni liječnički staž odradio sam u Kliničkoj bolnici „Sestre milosrdnice“, a specijalizaciju iz Urologije započeo u veljači 2007. godine u Kliničkom bolničkom centru Zagreb. Iste godine upisao sam i stručni poslijediplomski studij iz urologije. U ožujku 2012. godine položio sam specijalistički ispit iz Urologije, a radni sam odnos nastavio u Klinici za urologiju, KBC Zagreb. Za vrijeme studija, pripravničkog staža i specijalizacije stručno sam se usavršavao u klinikama u Njemačkoj, Velikoj Britaniji i Sloveniji.

Od 2006. godine urednik sam za multimediju u Croatian Medical Journal-u. Titulu magistra menadžmenta u zdravstvu stekao sam 2010. godine na studiju "Menadžment u zdravstvu" obranom diplomskog rada pod naslovom „Analiza DTS sustava i primjena u sklopu Klinike za Urologiju Kliničkog Bolničkog Centra Zagreb“. Aktivno sam sudjelovao na brojnim domaćim i inozemnim kongresima. Dobitnik sam dvije nagrade na kongresima iz područja laparoskopske urologije.

Objavio sam 22 znanstvena rada u indeksiranim časopisima, od kojih je 13 objavljeno u časopisima koji se referiraju u Current Contents indeksu. Područja znanstvenog interesa su mi transplantacija bubrega, minimalno invazivna kirurgija, primjena termografije u medicini, karcinom prostate i genetika tumora testisa.



## 10. LITERATURA

1. Pasini J, Misak VB, Kulis T, Nola IA, Puretic Z, Kastelan Z. [Preemptive kidney transplantation in children--experience in UHC Zagreb]. *Lijec Vjesn* 2012;134:9-12.
2. Torpey N. Renal transplantation. Oxford: Oxford University Press; 2010.
3. HINA, Novi list. Hrvatska prva u svijetu u transplantaciji jetre i bubrega. Rijeka: Novi list; 2012 [cited 2012 1.9.2012.]; Available from: <http://www.novolist.hr/Lifestyle/Zdravlje-ljepota/Zdravlje/Hrvatska-prva-u-svijetu-u-transplantaciji-jetre-i-bubrega>.
4. Gondos A, Dohler B, Brenner H, Opelz G. Kidney Graft Survival in Europe and the United States: Strikingly Different Long-term Outcomes. *Transplantation* 2012.
5. Ball AM, Gillen DL, Sherrard D i sur. Risk of hip fracture among dialysis and renal transplant recipients. *Jama* 2002;288:3014-8.
6. Grotz WH, Mundinger FA, Gugel B, Exner V, Kirste G, Schollmeyer PJ. Bone fracture and osteodensitometry with dual energy X-ray absorptiometry in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1994;58:912-5.
7. Palmer SC, Strippoli GF, McGregor DO. Interventions for preventing bone disease in kidney transplant recipients: a systematic review of randomized controlled trials. *Am J Kidney Dis* 2005;45:638-49.
8. Monier-Faugere MC, Mawad H, Qi Q, Friedler RM, Malluche HH. High prevalence of low bone turnover and occurrence of osteomalacia after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1093-9.
9. Seeman E, Delmas PD. Bone quality--the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med* 2006;354:2250-61.
10. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000;289:1504-8.
11. Compston JE. Bone marrow and bone: a functional unit. *J Endocrinol* 2002;173:387-94.
12. Bartl R. Bisphosphonates in medical practice : actions, side effects, indications, strategies. Berlin ; London: Springer; 2007.
13. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;423:337-42.
14. Bord S, Ireland DC, Beavan SR, Compston JE. The effects of estrogen on osteoprotegerin, RANKL, and estrogen receptor expression in human osteoblasts. *Bone* 2003;32:136-41.

15. Mejia N, Roman-Garcia P, Miar AB, Tavira B, Cannata-Andia JB. Chronic kidney disease--mineral and bone disorder: a complex scenario. *Nefrologia* 2011;31:514-9.
16. Orlić L. Mineral and bone disorder in chronic kidney disease [Mineralno-koštani poremećaji u kroničnoj bubrežnoj bolesti ]JF - Medicina Fluminensis. *Medicina Fluminensis* 2010;46:463-70.
17. Slatopolsky E, Caglar S, Pennell JP i sur. On the pathogenesis of hyperparathyroidism in chronic experimental renal insufficiency in the dog. *J Clin Invest* 1971;50:492-9.
18. Slatopolsky E, Finch J, Denda M i sur. Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth. High phosphorus directly stimulates PTH secretion in vitro. *J Clin Invest* 1996;97:2534-40.
19. Moe S, Drueke T, Cunningham J i sur. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006;69:1945-53.
20. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001;38:938-42.
21. Kulak CA, Dempster DW. Bone histomorphometry: a concise review for endocrinologists and clinicians. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2010;54:87-98.
22. Saliba W, El-Haddad B. Secondary hyperparathyroidism: pathophysiology and treatment. *J Am Board Fam Med* 2009;22:574-81.
23. Veenstra DL, Best JH, Hornberger J, Sullivan SD, Hricik DE. Incidence and long-term cost of steroid-related side effects after renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 1999;33:829-39.
24. Julian BA, Laskow DA, Dubovsky J, Dubovsky EV, Curtis JJ, Quarles LD. Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N Engl J Med* 1991;325:544-50.
25. Cohen A, Shane E. Osteoporosis after solid organ and bone marrow transplantation. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2003;14:617-30.
26. Grotz W, Nagel C, Poeschel D i sur. Effect of ibandronate on bone loss and renal function after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1530-7.
27. Maalouf NM, Shane E. Osteoporosis after solid organ transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2456-65.

28. Durieux S, Mercadal L, Orcel P i sur. Bone mineral density and fracture prevalence in long-term kidney graft recipients. *Transplantation* 2002;74:496-500.
29. Almond MK, Kwan JT, Evans K, Cunningham J. Loss of regional bone mineral density in the first 12 months following renal transplantation. *Nephron* 1994;66:52-7.
30. Horber FF, Casez JP, Steiger U, Czerniak A, Montandon A, Jaeger P. Changes in bone mass early after kidney transplantation. *J Bone Miner Res* 1994;9:1-9.
31. Carlini RG, Rojas E, Weisinger JR i sur. Bone disease in patients with long-term renal transplantation and normal renal function. *Am J Kidney Dis* 2000;36:160-6.
32. Brandenburg VM, Ketteler M, Heussen N i sur. Lumbar bone mineral density in very long-term renal transplant recipients: impact of circulating sex hormones. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2005;16:1611-20.
33. Cummings SR, Black D. Bone mass measurements and risk of fracture in Caucasian women: a review of findings from prospective studies. *Am J Med* 1995;98:24S-8S.
34. Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002;359:1929-36.
35. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *Bmj* 1996;312:1254-9.
36. Ramsey-Goldman R, Dunn JE, Dunlop DD i sur. Increased risk of fracture in patients receiving solid organ transplants. *J Bone Miner Res* 1999;14:456-63.
37. Leidig-Bruckner G, Hosch S, Dodidou P i sur. Frequency and predictors of osteoporotic fractures after cardiac or liver transplantation: a follow-up study. *Lancet* 2001;357:342-7.
38. Shane E, Papadopoulos A, Staron RB i sur. Bone loss and fracture after lung transplantation. *Transplantation* 1999;68:220-7.
39. Canalis E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Curr Osteoporos Rep* 2005;3:98-102.
40. Torregrosa JV. Immunosuppression and bone loss after transplantation. *Transplant Proc* 2001;33:3665-7.
41. van Staa TP. The pathogenesis, epidemiology and management of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Calcified tissue international* 2006;79:129-37.

42. Eastell R, Reid DM, Compston J i sur. A UK Consensus Group on management of glucocorticoid-induced osteoporosis: an update. *J Intern Med* 1998;244:271-92.
43. Lane NE, Lukert B. The science and therapy of glucocorticoid-induced bone loss. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998;27:465-83.
44. Cooper MS, Hewison M, Stewart PM. Glucocorticoid activity, inactivity and the osteoblast. *J Endocrinol* 1999;163:159-64.
45. Morris HA, Need AG, O'Loughlin PD, Horowitz M, Bridges A, Nordin BE. Malabsorption of calcium in corticosteroid-induced osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1990;46:305-8.
46. Reid IR, Ibbertson HK. Evidence for decreased tubular reabsorption of calcium in glucocorticoid-treated asthmatics. *Horm Res* 1987;27:200-4.
47. Mateo L, Nolla JM, Bonnin MR, Navarro MA, Roig-Escofet D. Sex hormone status and bone mineral density in men with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1995;22:1455-60.
48. Reid IR, Ibbertson HK, France JT, Pybus J. Plasma testosterone concentrations in asthmatic men treated with glucocorticoids. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;291:574.
49. Chiu MY, Sprague SM, Bruce DS, Woodle ES, Thistlethwaite JR, Jr., Josephson MA. Analysis of fracture prevalence in kidney-pancreas allograft recipients. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:677-83.
50. Bartl R, Frisch B. Osteoporosis : diagnosis, prevention, therapy. 2nd rev. ed. / in collaboration with Christoph Bartl. ed. Berlin: Springer; 2009.
51. Aroldi A, Tarantino A, Montagnino G, Cesana B, Cocucci C, Ponticelli C. Effects of three immunosuppressive regimens on vertebral bone density in renal transplant recipients: a prospective study. *Transplantation* 1997;63:380-6.
52. Grotz W, Mundinger A, Gugel B, Exner V, Reichelt A, Schollmeyer P. Missing impact of cyclosporine on osteoporosis in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 1994;26:2652-3.
53. McIntyre HD, Menzies B, Rigby R, Perry-Keene DA, Hawley CM, Hardie IR. Long-term bone loss after renal transplantation: comparison of immunosuppressive regimens. *Clin Transplant* 1995;9:20-4.
54. Westenfeld R, Schlieper G, Woltje M i sur. Impact of sirolimus, tacrolimus and mycophenolate mofetil on osteoclastogenesis--implications for post-transplantation bone disease. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:4115-23.
55. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003;42:S1-201.

56. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. World Health Organ Tech Rep Ser 1994;843:1-129.
57. Njeh CF, Fuerst T, Hans D, Blake GM, Genant HK. Radiation exposure in bone mineral density assessment. *Appl Radiat Isot* 1999;50:215-36.
58. Riekkinen O, Hakulinen MA, Toyras J, Jurvelin JS. Dual-frequency ultrasound-new pulse-echo technique for bone densitometry. *Ultrasound Med Biol* 2008;34:1703-8.
59. Dalen N, Alvestrand A. Bone mineral content in chronic renal failure and after renal transplantation. *Clin Nephrol* 1973;1:338-46.
60. Kwan JT, Almond MK, Evans K, Cunningham J. Changes in total body bone mineral content and regional bone mineral density in renal patients following renal transplantation. *Miner Electrolyte Metab* 1992;18:166-8.
61. Mikuls TR, Julian BA, Bartolucci A, Saag KG. Bone mineral density changes within six months of renal transplantation. *Transplantation* 2003;75:49-54.
62. Josephson MA, Schumm LP, Chiu MY, Marshall C, Thistlethwaite JR, Sprague SM. Calcium and calcitriol prophylaxis attenuates posttransplant bone loss. *Transplantation* 2004;78:1233-6.
63. El-Agroudy AE, El-Husseini AA, El-Sayed M, Ghoneim MA. Preventing bone loss in renal transplant recipients with vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2975-9.
64. Grotz WH, Rump LC, Niessen A i sur. Treatment of osteopenia and osteoporosis after kidney transplantation. *Transplantation* 1998;66:1004-8.
65. Cauley JA, Robbins J, Chen Z i sur. Effects of estrogen plus progestin on risk of fracture and bone mineral density: the Women's Health Initiative randomized trial. *Jama* 2003;290:1729-38.
66. Isoniemi H, Appelberg J, Nilsson CG, Makela P, Risteli J, Hockerstedt K. Transdermal oestrogen therapy protects postmenopausal liver transplant women from osteoporosis. A 2-year follow-up study. *J Hepatol* 2001;34:299-305.
67. Snyder PJ, Peachey H, Berlin JA i sur. Effects of testosterone replacement in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2670-7.
68. Guarneri V, Donati S, Nicolini M, Giovannelli S, D'Amico R, Conte PF. Renal safety and efficacy of i.v. bisphosphonates in patients with skeletal metastases treated for up to 10 Years. *Oncologist* 2005;10:842-8.
69. Conte P, Guarneri V. Safety of intravenous and oral bisphosphonates and compliance with dosing regimens. *Oncologist* 2004;9 Suppl 4:28-37.

70. Russell RG, Rogers MJ. Bisphosphonates: from the laboratory to the clinic and back again. *Bone* 1999;25:97-106.
71. Clark EA, King WG, Brugge JS, Symons M, Hynes RO. Integrin-mediated signals regulated by members of the rho family of GTPases. *J Cell Biol* 1998;142:573-86.
72. Ridley AJ, Paterson HF, Johnston CL, Diekmann D, Hall A. The small GTP-binding protein rac regulates growth factor-induced membrane ruffling. *Cell* 1992;70:401-10.
73. Rogers MJ, Gordon S, Benford HL i sur. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000;88:2961-78.
74. Zhang D, Udagawa N, Nakamura I i sur. The small GTP-binding protein, rho p21, is involved in bone resorption by regulating cytoskeletal organization in osteoclasts. *J Cell Sci* 1995;108 ( Pt 6):2285-92.
75. Zhang FL, Casey PJ. Protein prenylation: molecular mechanisms and functional consequences. *Annu Rev Biochem* 1996;65:241-69.
76. Hiroi-Furuya E, Kameda T, Hiura K i sur. Etidronate (EHDP) inhibits osteoclastic-bone resorption, promotes apoptosis and disrupts actin rings in isolate-mature osteoclasts. *Calcif Tissue Int* 1999;64:219-23.
77. Lin JH. Bisphosphonates: a review of their pharmacokinetic properties. *Bone* 1996;18:75-85.
78. Barri YM, Munshi NC, Sukumalchantra S i sur. Podocyte injury associated glomerulopathies induced by pamidronate. *Kidney Int* 2004;65:634-41.
79. Desikan R, Veksler Y, Raza S i sur. Nephrotic proteinuria associated with high-dose pamidronate in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2002;119:496-9.
80. Markowitz GS, Appel GB, Fine PL i sur. Collapsing focal segmental glomerulosclerosis following treatment with high-dose pamidronate. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1164-72.
81. Stokes MB, Valeri AM, Markowitz GS, D'Agati VD. Cellular focal segmental glomerulosclerosis: Clinical and pathologic features. *Kidney Int* 2006;70:1783-92.
82. Barisoni L, Kriz W, Mundel P, D'Agati V. The dysregulated podocyte phenotype: a novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:51-61.
83. Shreedhara M, Fenves AZ, Benavides D, Stone MJ. Reversibility of pamidronate-associated glomerulosclerosis. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2007;20:249-53.

84. Markowitz GS, Fine PL, Stack JI i sur. Toxic acute tubular necrosis following treatment with zoledronate (Zometa). *Kidney Int* 2003;64:281-9.
85. Perazella MA, Markowitz GS. Bisphosphonate nephrotoxicity. *Kidney Int* 2008;74:1385-93.
86. Mitterbauer C, Schwarz C, Haas M, Oberbauer R. Effects of bisphosphonates on bone loss in the first year after renal transplantation--a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2275-81.
87. Adachi JD, Bensen WG, Brown J i sur. Intermittent etidronate therapy to prevent corticosteroid-induced osteoporosis. *N Engl J Med* 1997;337:382-7.
88. Saag KG, Emkey R, Schnitzer TJ i sur. Alendronate for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. Glucocorticoid-Induced Osteoporosis Intervention Study Group. *N Engl J Med* 1998;339:292-9.
89. Coco M, Glicklich D, Faugere MC i sur. Prevention of bone loss in renal transplant recipients: a prospective, randomized trial of intravenous pamidronate. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2669-76.
90. Fan SL, Almond MK, Ball E, Evans K, Cunningham J. Pamidronate therapy as prevention of bone loss following renal transplantation. *Kidney Int* 2000;57:684-90.
91. Haas M, Leko-Mohr Z, Roschger P i sur. Zoledronic acid to prevent bone loss in the first 6 months after renal transplantation. *Kidney Int* 2003;63:1130-6.
92. Kovac D, Lindic J, Kandus A, Bren AF. Prevention of bone loss with alendronate in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2000;70:1542-3.
93. Torregrosa JV, Fuster D, Monegal A i sur. Efficacy of low doses of pamidronate in osteopenic patients administered in the early post-renal transplant. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2011;22:281-7.
94. Nam JH, Moon JI, Chung SS i sur. Pamidronate and calcitriol trial for the prevention of early bone loss after renal transplantation. *Transplant Proc* 2000;32:1876.
95. Walsh SB, Altmann P, Pattison J i sur. Effect of pamidronate on bone loss after kidney transplantation: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2009;53:856-65.
96. Fan SL, Kumar S, Cunningham J. Long-term effects on bone mineral density of pamidronate given at the time of renal transplantation. *Kidney Int* 2003;63:2275-9.
97. Weber TJ, Quarles LD. Preventing bone loss after renal transplantation with bisphosphonates: we can... but should we? *Kidney Int* 2000;57:735-7.

98. Svendsen OL. Statistical error in pamidronate study? *Kidney Int* 2000;58:465-6.
99. Sambrook PN, Eisman JA, Champion GD, Pocock NA. Sex hormone status and osteoporosis in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:973-8.
100. Palmer SC, McGregor DO, Strippoli GF. Interventions for preventing bone disease in kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;CD005015.
101. Hariharan S. Long-term kidney transplant survival. *Am J Kidney Dis* 2001;38:S44-50.
102. Cunningham J, Sprague SM, Cannata-Andia J i sur. Osteoporosis in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004;43:566-71.
103. Sprague SM, Josephson MA. Bone disease after kidney transplantation. *Semin Nephrol* 2004;24:82-90.
104. Giannini S, D'Angelo A, Carraro G i sur. Alendronate prevents further bone loss in renal transplant recipients. *J Bone Miner Res* 2001;16:2111-7.
105. Nisbeth U, Lindh E, Ljunghall S, Backman U, Fellstrom B. Increased fracture rate in diabetes mellitus and females after renal transplantation. *Transplantation* 1999;67:1218-22.
106. O'Shaughnessy EA, Dahl DC, Smith CL, Kasiske BL. Risk factors for fractures in kidney transplantation. *Transplantation* 2002;74:362-6.
107. Vautour LM, Melton LJ, 3rd, Clarke BL, Achenbach SJ, Oberg AL, McCarthy JT. Long-term fracture risk following renal transplantation: a population-based study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 2004;15:160-7.
108. Abbott KC, Oglesby RJ, Hypolite IO i sur. Hospitalizations for fractures after renal transplantation in the United States. *Ann Epidemiol* 2001;11:450-7.
109. Grotz WH, Mundinger FA, Rasenack J i sur. Bone loss after kidney transplantation: a longitudinal study in 115 graft recipients. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:2096-100.
110. Pichette V, Bonnardeaux A, Prudhomme L, Gagne M, Cardinal J, Ouimet D. Long-term bone loss in kidney transplant recipients: a cross-sectional and longitudinal study. *Am J Kidney Dis* 1996;28:105-14.
111. Kovac D, Lindic J, Kandus A, Bren AF. Prevention of bone loss in kidney graft recipients. *Transplant Proc* 2001;33:1144-5.



112. El-Agroudy AE, El-Husseini AA, El-Sayed M, Mohsen T, Ghoneim MA. A prospective randomized study for prevention of postrenal transplantation bone loss. *Kidney Int* 2005;67:2039-45.
113. Nayak B, Guleria S, Varma M i sur. Effect of bisphosphonates on bone mineral density after renal transplantation as assessed by bone mineral densitometry. *Transplant Proc* 2007;39:750-2.
114. Torregrosa JV, Fuster D, Gentil MA i sur. Open-label trial: effect of weekly risedronate immediately after transplantation in kidney recipients. *Transplantation* 2010;89:1476-81.
115. ten Dam MA, Hilbrands LB, Wetzels JF. Nephrotic syndrome induced by pamidronate. *Med Oncol* 2011;28:1196-200.
116. Briner VA, Thiel G, Monier-Faugere MC i sur. Prevention of cancellous bone loss but persistence of renal bone disease despite normal 1,25 vitamin D levels two years after kidney transplantation. *Transplantation* 1995;59:1393-400.
117. Atsumi K, Kushida K, Yamazaki K, Shimizu S, Ohmura A, Inoue T. Risk factors for vertebral fractures in renal osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 1999;33:287-93.
118. Coco M, Rush H. Increased incidence of hip fractures in dialysis patients with low serum parathyroid hormone. *Am J Kidney Dis* 2000;36:1115-21.
119. Lips P. Epidemiology and predictors of fractures associated with osteoporosis. *Am J Med* 1997;103:3S-8S; discussion S-11S.
120. Ross PD. Risk factors for osteoporotic fracture. *Endocrinology and metabolism clinics of North America* 1998;27:289-301.
121. European best practice guidelines for renal transplantation. Section IV: Long-term management of the transplant recipient. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17 Suppl 4:1-67.
122. Cunningham J. Posttransplantation bone disease. *Transplantation* 2005;79:629-34.
123. Smets YF, van der Pijl JW, de Fijter JW, Ringers J, Lemkes HH, Hamdy NA. Low bone mass and high incidence of fractures after successful simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:1250-5.
124. Lee S, Glicklich D, Coco M. Pamidronate used to attenuate post-renal transplant bone loss is not associated with renal dysfunction. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:2870-3.